

LA CINASA DE RESIDUOS DE SERINA Y TREONINA BLANCO DE LA RAPAMICINA (TORC1) ES ESENCIAL EN EL METABOLISMO CELULAR DE LOS EUCARIONTES*

Lucero Romero Aguilar^{1,2**}, Guadalupe Guerra Sánchez¹, Oscar I. Luqueño Bocardo², Juan Pablo Pardo²

¹Escuela Nacional de Ciencias Biológicas-Instituto Politécnico Nacional;

²Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina-Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

**Autor de correspondencia correo E: lusromaguila@hotmail.com

RESUMEN

El complejo proteico blanco de la rapamicina (TORC) participa en la regulación del crecimiento y de varios aspectos del metabolismo celular, tales como: síntesis de fosfolípidos, biogénesis de los ribosomas, incremento de la síntesis de RNAm y de proteínas e inhibición de la autofagia. Su actividad se regula por diversas señales generadas por nutrientes, factores de crecimiento y oxígeno, entre otras. Al entrar estas moléculas a la célula modifican la actividad de TORC, quien se encarga de amplificar la señal. La importancia del complejo radica en que es el núcleo integrador de una amplia gama de señales necesarias para un adecuado metabolismo celular. Se revisará brevemente las funciones de TORC en la regulación del metabolismo celular y su conservación desde levaduras a mamíferos.

PALABRAS

CLAVE:

TORC, regulación del metabolismo, aminoácidos, rapamicina.

ABSTRACT

Target of Rapamycin Complex is a key regulator of growth and several aspects of the cell metabolism like the biogenesis of ribosomes, the inhibition of autophagy, and the increase in the synthesis of mRNA and proteins. Its activity is regulated by several signals given by nutrients, oxygen and growth factors. The inputs of these molecules are funneled through TORC, which amplifies the signals. TORC is the center of many metabolic networks. The implications of this complex in cellular metabolism regulation, as well as its conservation from yeast to mammals will be discussed.

KEY WORDS:

TORC, metabolism regulation, amino acids, rapamycin.

La rapamicina y TOR

La rapamicina es un macrólido con actividad antifúngica, anticancerígena e inmunosupresora. Fue descubierta en 1975 como metabolito de la bacteria *Streptomyces hygroscopicus*, aislada de una muestra de suelo de la isla Easter, también conocida como Rapa Nui. En la década de los 90, se sabía que la ciclosporina y la rapamicina tenían efectos inmunosupresores y que eran importantes para evitar el rechazo de órganos trasplantados, pero se desconocían sus blancos moleculares. Experimentos realizados en *Saccharomyces cerevisiae*, demostraron que el blanco de la rapamicina (TOR)

era una cinasa de serina/treonina que pertenece a la superfamilia de las fosfatidilinositol 3-cinasas (PI3K); también se identificó a la prolina isomerasa FKBP12 como receptor de la rapamicina, necesaria para que este compuesto inhiba a la cinasa. Posteriormente se encontró que TOR está muy conservada en los eucariontes (1, 2).

Generalidades de los complejos TORC1 y TORC2

Las proteínas cinasas Tor1 actúan a través de dos complejos multiproteicos llamados TORC1 y TORC2, los cuales detectan y responden a señales desentra-

denadas por fuentes de nitrógeno, glucosa, oxígeno, diversos mitógenos y factores de crecimiento en levaduras y en mamíferos (3). TORC1 participa en la regulación del crecimiento y de varios procesos del metabolismo celular tales como la síntesis de fosfolípidos, la biogénesis de los ribosomas, el incremento de la síntesis del RNAm y de proteínas y la inhibición de la autofagia, entre otras, mientras que TORC2 está relacionado con la regulación de la polarización de la actina, los procesos de endocitosis, la actividad de la calcineurina, la síntesis de esfingolípidos y la organización del citoesqueleto. Para diferenciar entre los complejos TORC de mamíferos con los de levaduras, se coloca una "m" antes de TORC (mTORC) para la proteína de los mamíferos, mientras que para el de las levaduras sólo se usa TORC.

En los mamíferos mTor participa en la formación de dos complejos, mTORC1 y mTORC2, debido a que en el genoma sólo hay un gen para mTor. El complejo mTORC1 tiene un peso molecular de 1.2 MDa y consta de 5 subunidades: mTor, que es la su-

bunidad catalítica; la proteína reguladora asociada a Tor1 (RAPTOR, por sus siglas en inglés); mLST8 (mammalian lethal SEC13 protein 8); DEPTOR (Dishevelled/EGL-10/Pleckstrin) domain-containing mTOR-interacting protein) y PRAS40 (proline rich AKT substrate 40 KDa) (Fig. 1A). La subunidad mTor1 tiene un peso molecular de 282 kDa y un dominio C-terminal con actividad de cinasa (Fig. 1B). En el extremo N-terminal hay 40 repeticiones en tándem de 37-43 aminoácidos llamados HEAT (Huntington, elongation factor 3, la subunidad de PP2A y Tor), le sigue el dominio FAT (Focal Adhesion Target) de aproximadamente 500 aminoácidos, y flanqueando al dominio de cinasa, se encuentran los dominios FRB (~100 aminoácidos) y FATC (~600 aminoácidos) (Fig. 1B) (4-7). El dominio de cinasa es el dominio catalítico y es similar al dominio de cinasa de las fosfatidilinositol cinasas PI3K y PI4K (8). Los dominios HEAT ocupan casi la mitad de la región N-terminal y son el sitio de unión para algunas de las subunidades de los complejos TOR (Figuras 1A y 1B). La rapamicina, al asociarse con la prolin isomerasa FKBP12, favorece la interacción

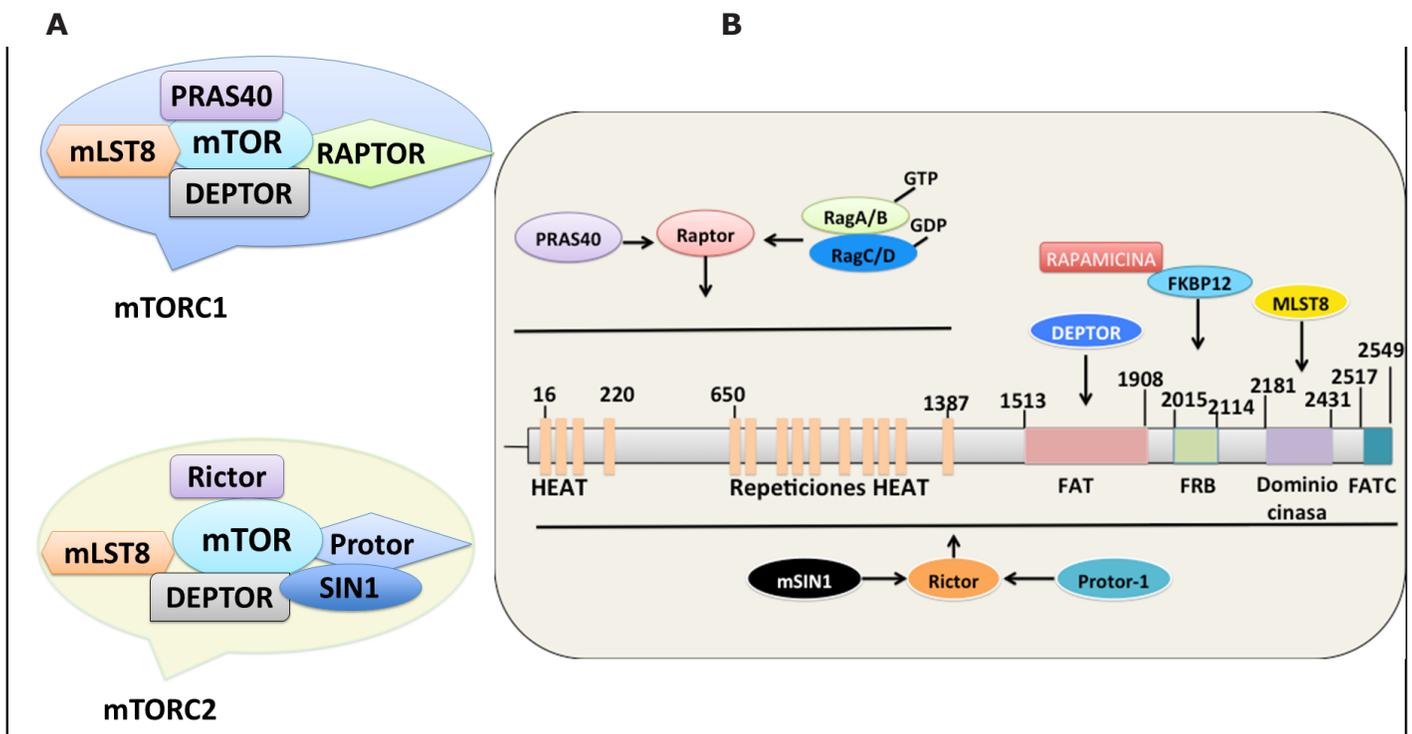


Figura 1. Dominios de la proteína mTor y los componentes de mTORC1 y mTORC2. A) mTORC1 está compuesto de 5 subunidades, mientras que mTORC2 tiene 6. Los complejos tienen en común la proteína cinasa, mLST8 y DEPTOR. RAPTOR y PRAS40 son exclusivas del complejo 1, mientras que RICTOR y Protor1,2 y mSIN1 del complejo 2. Además mTORC2 es insensible a rapamicina. **B)** Estructura de la proteína cinasa de Ser/Thr mTOR. El extremo amino terminal de mTOR contiene un tándem repetido de unidades HEAT (α -hélices antiparalelas que se encuentran en la huntingtina, factor de elongación 3, PP2A y TOR), importantes para las interacciones proteína-proteína. Los dominios FAT y FATC (35 aminoácidos aproximadamente) modulan la actividad del dominio cinasa. La rapamicina se une a la FKBP12 y este complejo interactúa con FRB, inhibiendo a TORC1. Modificada de referencia 5 y 10.

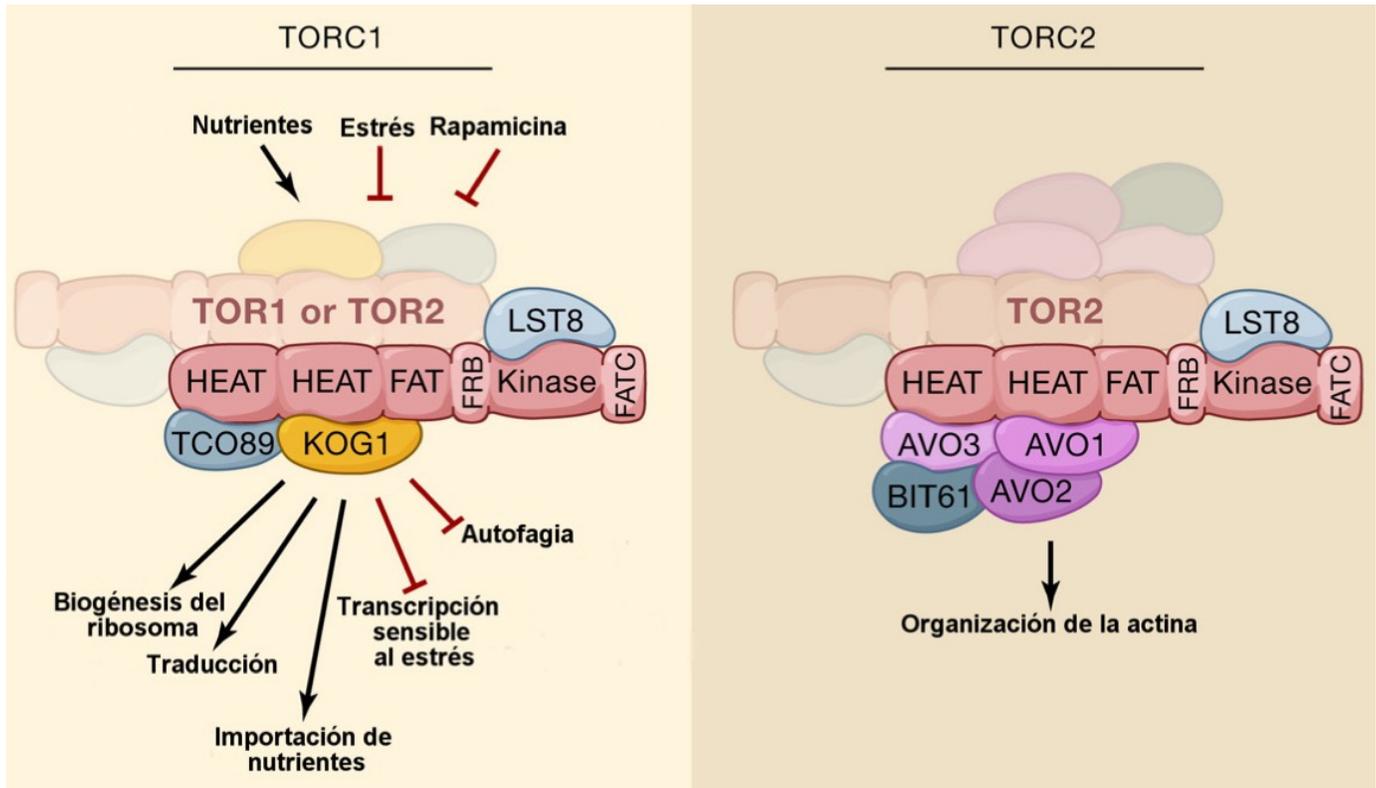


Figura 2. Complejos TOR1 y 2 de *S. cerevisiae* y los eventos que regulan. La proteína *tor1* sólo puede ensamblar el complejo 1 mientras que *tor2* puede ensamblar los dos complejos. Modificada de referencia 11.

de ésta con el dominio FRB de mTOR e inhibe su actividad (8-12). Además de que mTORC1/TORC1 es blanco de la rapamicina, también se inhibe cuando hay inanición de nutrientes, específicamente fuentes de nitrógeno.

Por otro lado, mTORC2 es insensible a la rapamicina y está integrado por seis proteínas: mTOR, RICTOR (rapamycin-insensitive companion of mTOR), mSIN1 (mammalian stress-activated protein kinase interactin protein), Protor1 (protein observed with Rictor-1), mLST8 y DEPTOR (Fig. 1A y 1B). Ambos complejos se regulan negativamente por la proteína DEPTOR. Sólo mLST8 parece ser esencial para la actividad de mTORC2 (2, 13, 14).

En contraste con los mamíferos, *S. cerevisiae* tiene dos proteínas, Tor1 y Tor2, codificadas por genes diferentes. Tor1 puede formar parte de TORC1 o TORC2, mientras que Tor2 sólo puede integrar a TORC2 (Fig. 2) (2, 4, 14). En las levaduras los componentes de TORC1 son Tor, Lst8, kog1 y Tco89. Por otro lado, los componentes de TORC2 son Tor2, Lst8, Avo1, Avo2, Avo3 y Bit61 o su parálogo Bit2. A diferencia de lo que ocurre mTORC1 en mamíferos y TORC1 en *S. cerevisiae*, el complejo FKBP12-rapamicina no interactúa con

el dominio FRB de las subunidades mTor o Tor1/Tor2 en los complejos mTORC2/TORC2, debido a un impedimento estérico causado por la subunidad RICTOR o Avo3, respectivamente (Fig. 2) (15, 16). La tabla 1 resume las diferencias en los componentes de los complejos TOR de mamíferos y levaduras.

Regulación y funciones de los complejos de TOR

En mamíferos, Raptor se pega a mTor en mTORC1 y su función es unir a varios sustratos, como el factor de traducción 4E-BP1 (inhibidor del factor de iniciación de la traducción eIF4E) y la cinasa S6K1, al dominio catalítico de mTOR, que cataliza la fosforilación de estas proteínas (17, 18) (Fig. 3). El activador de TORC1 es la GTPasa pequeña Rheb, que cuando tiene unido al GTP se une a mTOR y la activa. La proteína cinasa B (Akt), al inhibir a TSC1/TSC2 (complejo heterodimérico de la esclerosis tuberosa), mantiene activa a Rheb (Rheb-GTP). TSC1/TSC2 inhibe la actividad de mTORC1 (19) debido a que la subunidad TSC2 contiene un dominio GAP (GTPasa Activating Protein) que estimula la actividad de GTPasa de Rheb y con esto se produce la forma inactiva de Rheb (Rheb-GDP) (Fig. 3).

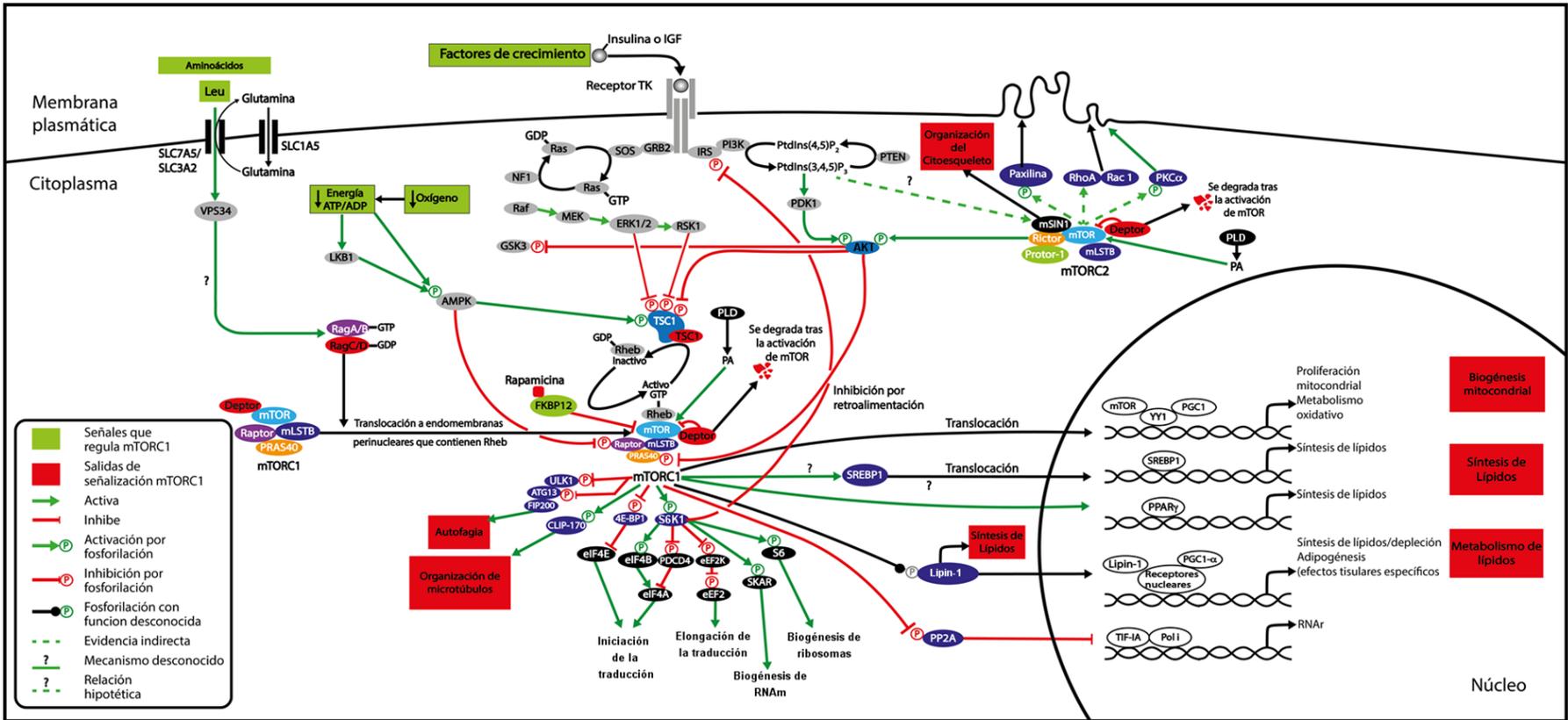


Figura 3. Señalización de TORC1/2 en mamíferos. mTORC1 regula la síntesis de proteínas, la síntesis de lípidos, el metabolismo, la biogénesis mitocondrial y la autofagia. La proteína de unión al factor de iniciación eucariótico 4E (4E-BP1), junto con la proteína S6K1, son los principales blancos de mTORC1. La proteína cinasa B (AKT) es uno de los principales blancos de mTORC2; este último está involucrado en la organización del citoesqueleto. AMPK, proteína cinasa activada por AMP. ATG13, proteína-13 relacionada a la autofagia. CLIP-170, regula la dinámica del microtúbulo. mTOR proteína blanco de la rapamicina. Deptor, Raptor, PRAS40, mLST8 y Rheb, subunidades de mTORC1. Deptor, mSIN1, Rictor, Protor-1, mLST8, subunidades de mTORC2. eEF2, factor de elongación 2 eucariótico y eEF2K, cinasa del factor de elongación 2. eIF4E, eIF4B, eIF4A, factores de iniciación de la traducción eucariótica. PDCD4, proteína de muerte celular programada 4. PPAR γ , receptor nuclear activado por el proliferador de peroxisomas, que tiene la capacidad de acoplarse con una gran variedad de moléculas, como las tiazolidinedionas. Pol I, RNA polimerasa 1. PP2A, proteína fosfatasa 2A. Rag, Rheb, Rho, Rac1, proteínas de unión a GTP, homólogas de Ras. S6K1, cinasa de la proteína ribosomal S6. SKAR, proteína blanco de S6K1. SLC, acarreadores de aminoácidos. SREBP1, proteína 1 de unión a los elementos reguladores de estero. TIF-1A, factor 1A de la iniciación de la transcripción del RNA ribosomal. TSC 1 y 2, complejo de la esclerosis tuberosa. ULK1, cinasa de serina/ treonina; VPS34, fosfatidilinositol 3 cinasa necesaria para el transporte de la vacuola y en la autofagia; YY1, ying-yang 1, proteína represora de la transcripción; LKB1, cinasa de serina/ treonina que activa a la AMPK; Lipin-1, proteína con actividad de fosfatidato-fosfatasa. PGC1- α , proteína 1a coactivadora del receptor activado por el proliferador de peroxisomas. PKC- α , proteína cinasa C α . FIP200, proteína que interactúa con ULK1 para la formación del autofagosoma. GSK3, Glucógeno sintasa cinasa 3. FKBP12, peptidil-prolil cis-trans isomerasa que une a la rapamicina. Modificada de referencia 35.

Tabla 1. Componentes de mTORC1/2 en mamíferos y sus ortólogos en *Saccharomyces cerevisiae*

Complejo	Ortólogo en mamífero	Ortólogo en levaduras	Tamaño de la proteína (kDa)	Tamaño del complejo (MDa)
TORC1	?	Tco89	89	1.2
	Raptor	Kog1/Las24	178	
		Tor1	281	
TORC1 y 2	mTOR	Tor2	282	
	mLST8	Lst8	34	
Sólo, TORC2	Rictor	Avo3/Tsc11	164	1.4
	?	Avo2	47	
	hSin1	Avo1	131	
	Protor-1,2	Bit61, Bit2	61	

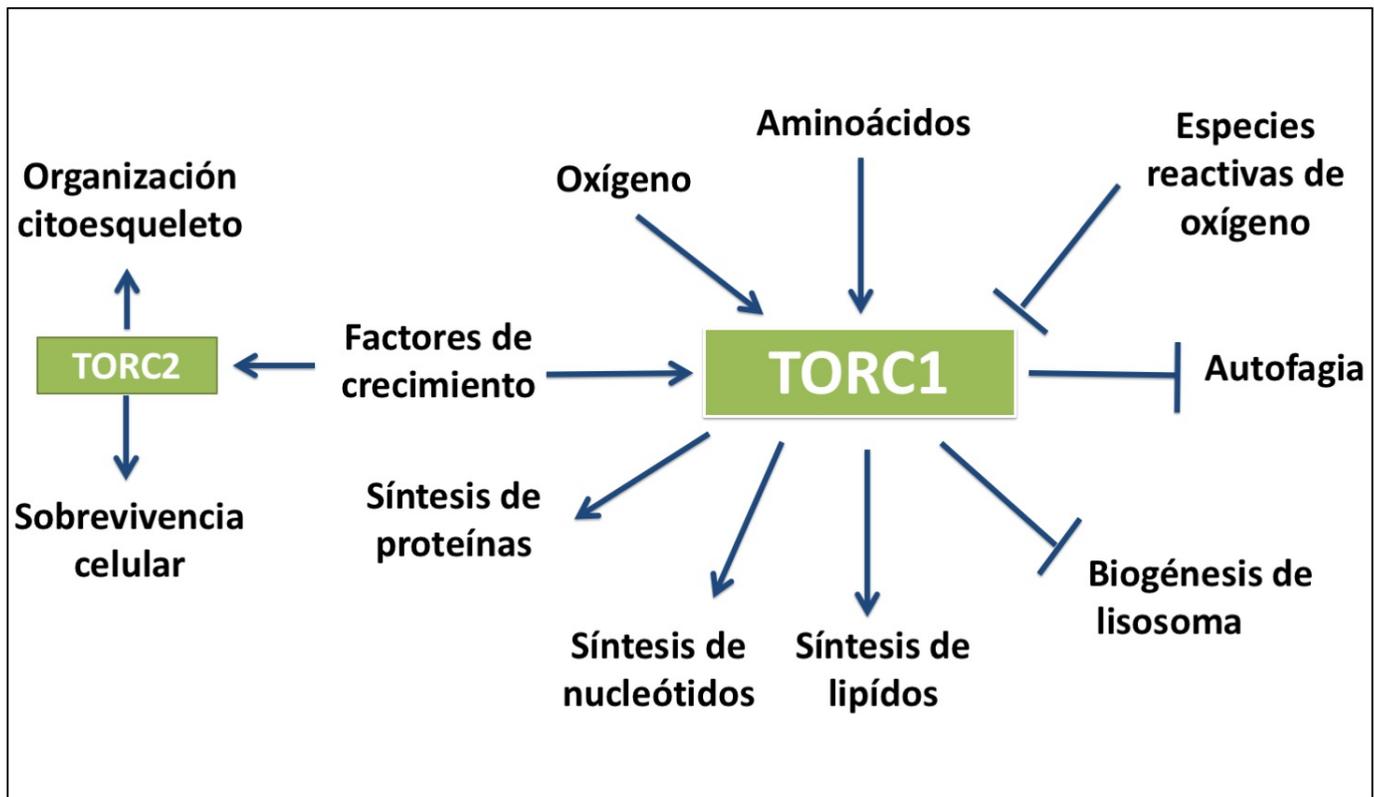


Figura 4. Señales que activan a los complejos Tor y sus efectos celulares. TORC1 de levaduras y mamíferos detecta señales del medio como la disponibilidad de aminoácidos, oxígeno, factores de crecimiento o especies reactivas de oxígeno. Cada una de estas señales es traducida a una respuesta celular a través de diversas cascadas de señalización. Modificada de referencia 31.

TSC1 no tiene un dominio GAP y no es activadora de mTORC1, pero estabiliza a TSC2 (19).

Cada uno de estos complejos regula diferentes procesos metabólicos en la célula a través de las

vías de señalización activadas por los nutrientes disponibles. Debido a que TORC1 es blanco de la rapamicina, las respuestas celulares más estudiadas son aquellas en las que participa mTORC1/TORC1,

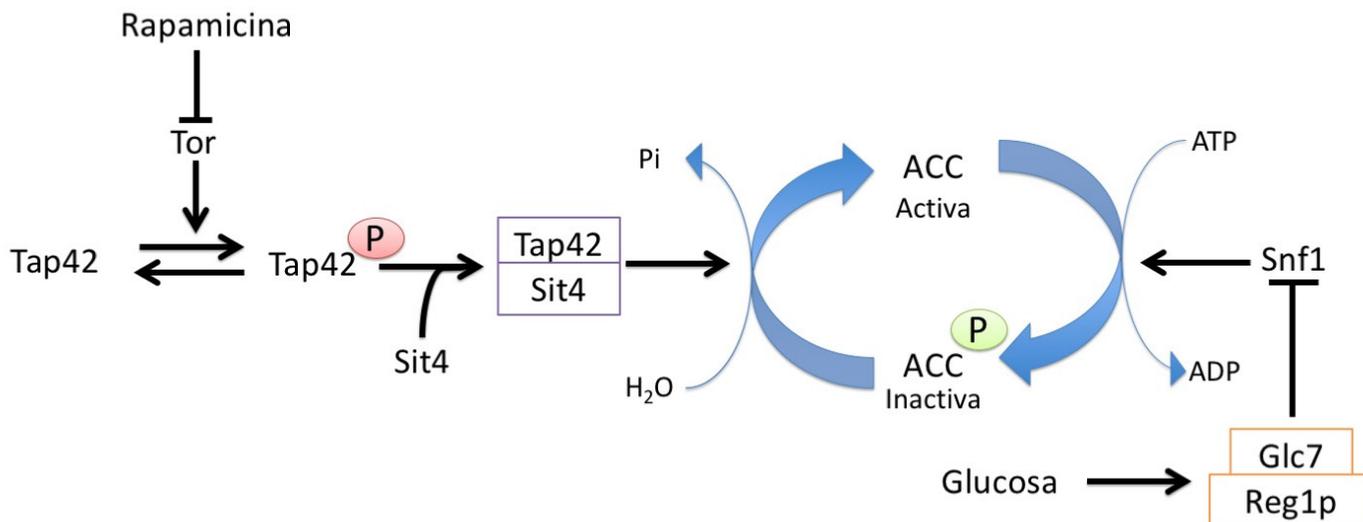


Figura 5. TORC1 participa en la regulación del metabolismo lipídico. Tor1 fosforila a Tap42, la cual se asocia con la fosfatasa Sit4, que desfosforila y activa a la acetil-CoA carboxilasa (ACC). En presencia de glucosa, la proteína fosfatasa 1 formada por las subunidades Reg1p y Glc7, desfosforila e inhibe a la AMP cinasa Snf1 lo que conduce a un aumento de la desfosforilación de la ACC y su posterior activación. Cuando Snf1 fosforila a la ACC, ésta se inhibe.

por lo que se sabe que en mamíferos el complejo inhibe la autofagia, estimula la síntesis de lípidos, la biogénesis ribosomal y la traducción del RNAm a través de la fosforilación de S6K1 y 4E-BP1 (sus sustratos mejor conocidos), permite la progresión del ciclo celular, la proliferación celular, y participa en la respuesta inmuno-adaptativa (Fig. 4) (20, 21).

Respecto a mTORC2, al no ser blanco de la rapamicina, los eventos celulares en los que participa se han explorado menos. Sin embargo, se sabe que responde a señales causadas por factores de crecimiento y que su principal efector es la proteína cinasa B (PKB/Akt) y la glucógeno sintasa cinasa 3 (GSK3) (Fig. 3) (21). La actividad de TORC2 se ha relacionado con la regulación de la polarización de la actina, la endocitosis a través de la PKC y del complejo RhoA-Rac1, la actividad de la calcineurina, la síntesis de esfingolípidos y la integridad del genoma en levaduras (Fig. 4). Sin embargo, se desconocen los mecanismos precisos por los cuales actúa (14, 16, 22). Utilizando técnicas de co-precipitación de TORC2 en *Dictyostelium*, una especie amiboidea del filo *Mycetozoa*, que vive en el suelo, se encontró que las GTPasas pequeñas RasC y Rap1 controlan la actividad de TORC2 a través de su unión al dominio catalítico de Tor y RIP3/SIN1, respectivamente (16).

TORC1 en la regulación del metabolismo lipídico

Los principales efectores de la respuesta río abajo de TORC1 son la cinasa Sch9 y la proteína fos-

fatasa tipo 2A (PP2A), que junto con la proteína TAP42p, dirigen la respuesta celular al ambiente nutricional a través de TORC1 (23). Cuando se activa, TORC1 fosforila a Tap42, la cual se asocia con Sit4, la subunidad catalítica de una fosfatasa de serina-treonina tipo 2, que desfosforila y activa a la acetil-CoA carboxilasa (ACC), enzima clave en la biosíntesis de los ácidos grasos (Fig. 3). La eliminación de Sit4 en *S. cerevisiae* disminuye la producción de los ácidos grasos y aumenta la sensibilidad a sorafen A, que inhibe a la ACC y, por lo tanto, la síntesis de lípidos (24, 25). Sorafen A es un policétido macrocíclico aislado de la mixobacteria *Sorangium cellulosum*, que se une a la ACC de eucariontes con una constante de disociación de 1.1 ± 0.3 nM (26). Por otra parte, la proteína fosfatasa 1, formada por una subunidad reguladora (Reg1p) y otra catalítica (Glc7), inhibe a la AMP cinasa Snf1 (Sucrose non fermenting), encargada de fosforilar a la ACC. La actividad de la ACC depende de su estado de fosforilación: cuando está desfosforilada se encuentra en su forma activa, pero pierde la actividad cuando se fosforila (Fig. 5).

En la misma levadura, se pueden suprimir al azar genes que codifican para fosfatasas que no participan directamente en la síntesis de lípidos, pero que resulta en una mayor acumulación de éstos. Cuando se elimina el gen que codifica para la diacilglicerol acil transferasa (DGAT), los niveles de triacilgliceroles (TAG) disminuyeron, mientras que con la supresión de una triacilglicerol lipasa, incrementan los niveles de TAG. El tratamiento de la

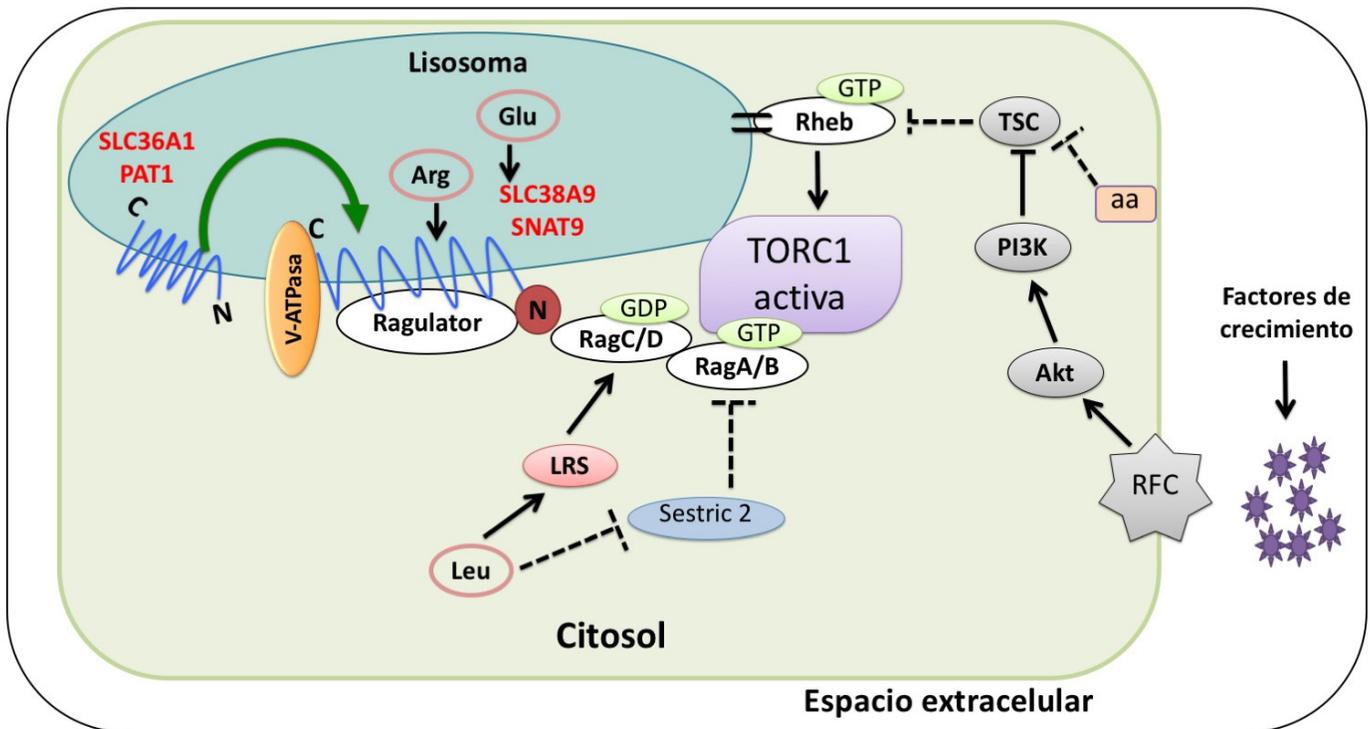


Figura 6. Modelo de la regulación de TORC1 por aminoácidos. La activación de TORC (morado) depende de la concentración de los aminoácidos (aa), la cual es detectada por los transportadores de aminoácidos (línea zigzag azul). La disponibilidad de aa en la célula promueve la activación de TORC1 por Rag-GDP/GTP y Rheb-GTP. Los factores de crecimiento también promueven la activación de TORC1. En el esquema las inhibiciones debidas a la ausencia de aminoácidos o factores de crecimiento se muestran con líneas punteadas, los sensores en rojo y también se muestra a la leucil-tRNA sintetasa (LRS), que es un sensor citosólico. Estos sensores responden a los insumos de aminoácidos y reclutan y activan a mTORC1 en la superficie del lisosoma. La flecha verde indica la interacción entre PAT1 (SLC36A1) y un supercomplejo de mTORC1, que es menos estable que el que se obtiene con SLC38A9. TSC1/2 inhibe a mTORC1. Modificada de referencia 32.

levadura con rapamicina resulta en un incremento en la acumulación de lípidos vía la formación de triacilglicérols y no de esteróles, que se almacenan en los cuerpos lipídicos (CLs) (Fig. 5) (27).

TORC se regula por aminoácidos

Las células responden a estímulos como la glucosa, el nitrógeno y los aminoácidos, a través de numerosas señales celulares (22). Tanto las células de levaduras como de mamíferos responden al estrés por inanición de aminoácidos a través de la inducción y supresión de diversas vías como la síntesis de proteínas, la duplicación celular y la producción de intermediarios del ciclo de los ácidos tricarbóxicos. En todas estas vías, mTORC1/TORC1 tiene una participación y la falta de aminoácidos causa la inactivación del complejo; además, la eliminación de mTORC1/TORC1 desencadena el proceso de autofagia. En la larva de mosca, la delección de Tor o la falta de aminoácidos estimula la acumulación de CLs (28), semejante a lo que ocurre en *S. cerevisiae*

(27). Los aminoácidos que tienen un efecto activador sobre mTORC1/TORC1 son leucina, arginina y glutamina, y la eliminación o variación en la relación de estos aminoácidos provoca la inactivación de mTORC1/TORC1 (29). Los transportadores de leucina son importantes para activar mTORC1, pero requieren el flujo de la glutamina vía el transportador bidireccional SLC7A5 (Solute Carrier Family 7 Member 5) (Fig. 3) (28). Sin embargo, la vía de señalización desencadenada por los aminoácidos no ha sido completamente elucidada. En las células de mamíferos, el lisosoma está involucrado en la vía de respuesta a los aminoácidos, en donde la ATPasa vacuolar (V-ATPasa) interactúa con la proteína ragulator en respuesta a la acumulación de aminoácidos en el lumen del lisosoma (Fig. 6). Ragulator se encuentra anclado al lisosoma y funciona como un factor intercambiador de nucleótidos de guanina que activa a las Rag-GTPasas, lo que resulta en la unión de los complejos Rag y el posterior reclutamiento de mTORC (Fig. 3 y 6). Para la activación de ragulator, la hidrólisis de ATP y la rotación asociada de la V-

ATPasa es esencial (29). La familia Rag-GTPasa se compone de cuatro miembros (RagA, B, C y D) y presentan actividad sólo como heterodímeros (28). El complejo regulador-Rag no activa directamente a mTORC, sólo media la translocación de éste al lisosoma en respuesta al estímulo de los aminoácidos. Una vez en el lisosoma, mTORC1 puede interactuar con su activador, la proteína Rheb (6, 30). La regulación de mTORC1 por aminoácidos es independiente de la vía de PI3K/Akt y del complejo heterodimérico TSC (Fig. 3). Estudios recientes han identificado a SLC38A9 (Solute Carrier Family 38 number 9) como un componente funcional de la maquinaria lisosomal que controla la actividad de mTORC1 en respuesta a los aminoácidos. Éste es un transportador exclusivo de glutamina y arginina, con varios cruces transmembranales que se une al complejo regulador-Rag GTPases en respuesta a los aminoácidos y que estimula la actividad de mTORC1. En la respuesta a la leucina participa una leucil-tRNA sintetasa (LRS), que cataliza la unión de la leucina a su tRNA, el cual se une y regula directamente a RagD, estimulando a mTORC1, mientras que Sestrin 2 inhibe la actividad de mTORC1, figura 6 (29, 31-33).

mTOR como blanco terapéutico

El complejo mTORC1 está involucrado en algunas de las alteraciones metabólicas que favorecen la proliferación celular en células cancerosas, por lo que se ha propuesto como blanco celular para el tratamiento de ciertos tipos de cáncer, como el carcinoma renal. El uso de la rapamicina y de sus análogos, llamados rapálogos, como el temsirolimus, el everolimus y el AP23573, han mostrado ser eficientes contra varios tipos de células tumorales. Sin embargo, tienen efectos secundarios como astenia, náusea, diarrea, hiperglicemia, hipertrigliceridemia, transaminasas elevadas y trombocitopenia, por lo que su uso debe de estar bajo estricta observación del especialista (34).

En levaduras, el nemátodo *Caenorhabditis elegans* y en ratones, la sobre-expresión de mTOR está asociada con un envejecimiento prematuro.

Por otro lado, en un modelo de Alzheimer en ratones, el tratamiento con rapamicina mejoró el déficit cognitivo, debido a un efecto neuroprotector. Puesto que esta enfermedad en humanos es una patología relacionada con la neurodegeneración, y debido a que el envejecimiento es un factor de riesgo en su aparición, se ha propuesto que la inhibición de mTOR podría disminuir el desarrollo de la enfermedad, aunque estos experimentos no se han realizado en humanos. Las implicaciones de los complejos de Tor en el metabolismo celular son amplias y un panorama de los procesos en los que participan se muestra en las figuras 3 y 4 (35).

Conclusión

mTor/Tor es una cinasa que fosforila residuos de serina y treonina, y que está implicada en varios aspectos del metabolismo celular de eucariontes. Funciona como un complejo multiproteico que trabaja a través de numerosas cascadas de señalización, reguladas por nutrientes como los aminoácidos, la glucosa y el oxígeno en las levaduras, y adicionalmente, por factores de crecimiento y hormonas en mamíferos, que se liberan en respuesta al estado nutricional-energético del organismo. Si bien se conocen algunos eventos celulares en los que el complejo participa, el uso de otros modelos celulares permitirá elucidar las otras cascadas de señalización que están conectadas con los complejos de Tor.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca para estudios de posgrado (237219) que recibió Lucero Romero Aguilar. Instituto Politécnico Nacional; IPN-SIP- 20170864, 20160999 y CONACyT 256520-GGS. Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT IN222117), Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), y (CONACyT 254904-JPP). 

REFERENCIAS

1. Betz C, Hall MN (2013) Where is mTOR and what is it doing there? *Journal of Cell Biology* 203: 563-574.
2. Weisman R, Cohen A, Gasser SM (2014) TORC2-a new player in genome stability. *Embo Molecular Medicine* 6: 995-1002.
3. Cornu M, Albert V, Hall MN (2013) mTOR in aging, metabolism, and cancer. *Current Opinion in Genetics & Development* 23: 53-62.
4. Maegawa K, Takii R, Ushimaru T, Kozaki A (2015) Evolutionary conservation of TORC1 components, TOR, Raptor, and LST8, between rice and yeast. *Molecular Genetics and Genomics* 290: 2019-2030.
5. Benjamin D, Colombi M, Moroni C, Hall MN (2011) Rapamycin passes the torch: a new generation of mTOR inhibitors. *Nat Rev Drug Discov* 10: 868-880.
6. Groenewoud MJ, Zwartkruis FJT (2013) Rheb and Rags come together at the lysosome to activate mTORC1. *Biochemical Society Transactions* 41: 951-955.
7. Adami A, Garcia-Alvarez B, Arias-Palomo E, Barford D, Llorca O (2007) Structure of TOR and its complex with KOG1. *Mol Cell* 27: 509-516.
8. Loewith R, Hall MN (2011) Target of rapamycin (TOR) in nutrient signaling and growth control. *Genetics* 189: 1177-1201.
9. Asnaghi L, Bruno P, Priulla M, Nicolin A (2004) mTOR: a protein kinase switching between life and death. *Pharmacol Res* 50: 545-549.
10. Loewith R, Jacinto E, Wullschleger S, Lorberg A, Crespo JL, et al. (2002) Two TOR complexes, only one of which is rapamycin sensitive, have distinct roles in cell growth control. *Molecular Cell* 10: 457-468.
11. Wullschleger S, Loewith R, Hall MN (2006) TOR signaling in growth and metabolism. *Cell* 127: 5-19.
12. Laxman S, Tu BP (2011) Multiple TORC1-associated proteins regulate nitrogen starvation-dependent cellular differentiation in *Saccharomyces cerevisiae*. *PLoS One* 6: e26081.
13. Gaubitz C, Oliveira TM, Prouteau M, Leitner A, Karuppasamy M, et al. (2015) Molecular Basis of the Rapamycin Insensitivity of Target Of Rapamycin Complex 2. *Mol Cell* 58: 977-988.
14. Gaubitz C, Prouteau M, Kusmider B, Loewith R (2016) Torc2 Structure and Function. *Trends in Biochemical Sciences* 41: 532-545.
15. Gaubitz C, Oliveira TM, Prouteau M, Leitner A, Karuppasamy M, et al. (2015) Molecular Basis of the Rapamycin Insensitivity of Target Of Rapamycin Complex 2. *Molecular Cell* 58: 977-988.
16. Khanna A, Lotfi P, Chavan AJ, Montano NM, Bolourani P, et al. (2016) The small GTPases Ras and Rap1 bind to and control TORC2 activity. *Scientific Reports* 6.
17. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.
18. Inoki K, Ouyang H, Li Y, Guan KL (2005) Signaling by target of rapamycin proteins in cell growth control. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 69: 79-+.
19. Avruch J, Hara K, Lin Y, Liu M, Long X, et al. (2006) Insulin and amino-acid regulation of mTOR signaling and kinase activity through the Rheb GTPase. *Oncogene* 25: 6361-6372.
20. Xiong Y, Sheen J (2014) The role of target of rapamycin signaling networks in plant growth and metabolism. *Plant Physiol* 164: 499-512.
21. Janes MR, Limon JJ, So LM, Chen J, Lim RJ, et al. (2010) Effective and selective targeting of leukemia cells using a TORC1/2 kinase inhibitor. *Nature Medicine* 16: 205-U115.
22. Ikai N, Nakazawa N, Hayashi T, Yanagida M (2011) The reverse, but coordinated, roles of Tor2 (TORC1) and Tor1 (TORC2) kinases for growth, cell cycle and separase-mediated mitosis in *Schizosaccharomyces pombe*. *Open Biology* 1.
23. Schneper L, Duvel K, Broach JR (2004) Sense and sensibility: nutritional response and signal integration in yeast. *Curr Opin Microbiol* 7: 624-630.
24. Tehlivets O, Scheuringer K, Kohlwein SD (2007) Fatty acid synthesis and elongation in yeast. *Biochim Biophys Acta* 1771: 255-270.
25. Bozaquel-Morais BL, Madeira JB, Maya-Monteiro CM, Masuda CA, Montero-Lomeli M (2010) A new fluorescence-based method identifies protein phosphatases regulating lipid droplet metabolism. *PLoS One* 5: e13692.
26. Shen Y, Volrath SL, Weatherly SC, Elich TD, Tong L (2004) A mechanism for the potent inhibition of eukaryotic acetyl-coenzyme a carboxylase by soraphen A, a macrocyclic polyketide natural product. *Molecular Cell* 16: 881-891.

27. Madeira JB, Masuda CA, Maya-Monteiro CM, Matos GS, Montero-Lomeli M, et al. (2015) TORC1 Inhibition Induces Lipid Droplet Replenishment in Yeast. *Molecular and Cellular Biology* 35: 737-746.
28. Sengupta S, Peterson TR, Sabatini DM (2010) Regulation of the mTOR Complex 1 Pathway by Nutrients, Growth Factors, and Stress. *Molecular Cell* 40: 310-322.
29. Tan VP, Miyamoto S (2016) Nutrient-sensing mTORC1: Integration of metabolic and autophagic signals. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 95: 31-41.
30. Sancak Y, Bar-Peled L, Zoncu R, Markhard AL, Nada S, et al. (2010) Ragulator-Rag complex targets mTORC1 to the lysosomal surface and is necessary for its activation by amino acids. *Cell* 141: 290-303.
31. Wolfson RL, Chantranupong L, Saxton RA, Shen K, Scaria SM, et al. (2016) METABOLISM Sestrin2 is a leucine sensor for the mTORC1 pathway. *Science* 351: 43-48.
32. Goberdhan DCI, Wilson C, Harris AL (2016) Amino Acid Sensing by mTORC1: Intracellular Transporters Mark the Spot. *Cell Metabolism* 23: 580-589.
33. Chantranupong L, Scaria SM, Saxton RA, Gygi MP, Shen K, et al. (2016) The CASTOR Proteins Are Arginine Sensors for the mTORC1 Pathway. *Cell* 165: 153-164.
34. Meric-Bernstam F, Gonzalez-Angulo AM (2009) Targeting the mTOR signaling network for cancer therapy. *J Clin Oncol* 27: 2278-2287.
35. Laplante M, Sabatini DM (2009) mTOR signaling at a glance. *Journal of Cell Science* 122: 3589-3594.