LIFE Science Hub
JOURNAL OF SCIENCE
EXPANDING KNOWLEDGE ABOUT NUTRITION AND HEALTH

ORIGINAL RESEARCH
ISSN 2845-7269

Imaging diretto del reclutamento e della fosforilazione di S6K1 nella via mTORC1 in cellule viventi - Revisione delle prove

D.ssa D. Iodice[1]

1 Biologa, Italy

1. ABSTRACT

Lo studio analizzato ha esaminato come la proteina S6K1, un importante esecutore dei segnali di crescita cellulare, venga organizzata e attivata dal complesso mTORC1 in cellule viventi. Mediante microscopia a fluorescenza e un biosensore costruito dagli autori, la ricerca ha osservato che S6K1 è distribuita sia nel nucleo sia nel citoplasma, ma viene spostata soprattutto nel citoplasma quando è coespressa con raptor, componente organizzativa di mTORC1. In queste condizioni, la fosforilazione di S6K1, cioè l'aggiunta di un gruppo chimico che ne favorisce l'attivazione, è risultata localizzata principalmente nel citoplasma.La pubblicazione contribuisce al passaggio de “La scelta di Vivere in Salute o in Malattia” del Dott. A. Colonnese e R. Panzironi secondo cui S6K1 deve essere reclutata vicino a mTORC1 prima della fosforilazione. Studi indipendenti confermano che il motivo TOS di S6K1 permette il riconoscimento da parte di raptor e che la disponibilità di raptor condiziona la fosforilazione. Dati strutturali chiariscono inoltre il punto di contatto fra raptor e il motivo TOS. Esiste tuttavia un'interpretazione alternativa, basata su esperimenti cellulari, che attribuisce a eIF4E un ruolo diretto nell'interazione con il motivo TOS. Nel complesso, la narrazione è confermata soprattutto a livello molecolare e cellulare.

ONLINE ARTICLE

ARTICLE INFORMATION

Published: November 17, 2026
Updated: November 17, 2026

DOI 10.5281/zenodo.24306625

MISSION

LIFE Science Hub – Journal of Science nasce con l'obiettivo di rendere accessibile il sapere scientifico senza rinunciare a rigore metodologico, qualità delle fonti e autorevolezza dei contenuti. La rivista promuove la diffusione della conoscenza nelle scienze della salute, della nutrizione, della medicina e della longevità, creando un ponte tra il mondo della ricerca e la società.

Attraverso articoli, revisioni, approfondimenti e contributi di esperti, il Journal valorizza la medicina e la scienza basate sulle evidenze, favorendo una corretta interpretazione dei dati scientifici e contrastando la disinformazione. Ogni contenuto è sviluppato con l'obiettivo di tradurre la complessità della ricerca in informazioni comprensibili, utili e applicabili, mantenendo intatti i principi di accuratezza, trasparenza e indipendenza scientifica.

Libera da condizionamenti politici, industriali e commerciali, la rivista si propone come uno spazio editoriale autorevole e indipendente, dedicato alla promozione della cultura scientifica, dell'aggiornamento professionale e della crescita della consapevolezza sanitaria nella popolazione.

2. STUDIO ANALIZZATO

La domanda di ricerca era capire dove, dentro una cellula vivente, S6K1 venga reclutata dal complesso mTORC1 e dove avvenga la sua fosforilazione. mTORC1 (complesso proteico che integra segnali di nutrienti e fattori di crescita) può attivare S6K1, una chinasi, cioè una proteina che modifica altre proteine aggiungendo gruppi fosfato. Gli autori hanno ipotizzato che raptor, una componente di mTORC1 con funzione di piattaforma organizzativa, favorisca il reclutamento di S6K1 e la sua collocazione nel citoplasma.La pertinenza rispetto al paragrafo 4.7 de "La scelta di Vivere in Salute o in Malattia" del Dott. A. Colonnese e R. Panzironi è specifica: il libro afferma che, prima di essere fosforilata, S6K1 deve essere reclutata vicino a mTORC1 attraverso un'organizzazione precisa delle proteine della piattaforma di segnalazione. Lo studio analizzato osserva direttamente, in cellule vive, il segmento cellulare di questa catena: associazione funzionale fra S6K1, raptor e mTORC1, redistribuzione di S6K1 nel citoplasma e fosforilazione prevalentemente citoplasmatica.La ricerca può quindi documentare dinamiche molecolari in un modello sperimentale cellulare. Non può stabilire che lo stesso ordine di eventi avvenga identicamente in tutti i tessuti umani, né dimostrare da sola conseguenze cliniche, metaboliche o terapeutiche.

3. MATERIALI E METODI DELLO STUDIO ORIGINALE

Lo studio è sperimentale e ha utilizzato soprattutto cellule HEK293, cellule di rene embrionale umano coltivate in laboratorio. Sono state impiegate anche cellule HEK293T, HEK293F in sospensione e cellule di insetto SF9 per produrre e purificare il biosensore. Le cellule HEK293 sono state seminate a una densità di 1 × 10⁵ oppure 1,5 × 10⁵ cellule per mL e trasfettate, cioè indotte a produrre proteine introdotte artificialmente, con plasmidi che codificavano S6K1, raptor, mTOR, Rheb e altre varianti fluorescenti.Per visualizzare proteine e interazioni sono state usate microscopia confocale e FRET-FLIM. FRET-FLIM (metodo che rileva se due molecole fluorescenti sono sufficientemente vicine da modificare la durata della loro emissione luminosa) permette di stimare interazioni proteina-proteina nelle cellule vive. Gli autori hanno inoltre eseguito Western blot, una tecnica che misura la presenza e lo stato di fosforilazione delle proteine, esperimenti di pull-down per isolare complessi proteici e immunofluorescenza su cellule fissate.È stato costruito un biosensore chiamato SensOR, formato da mCherry-S6K1-EGFP. Il sensore sfrutta il cambiamento conformazionale di S6K1 dopo fosforilazione: una struttura più ripiegata avvicina i marcatori fluorescenti e accorcia la durata di fluorescenza. Per modificare il segnale mTORC1, le cellule sono state private di siero e amminoacidi, poi esposte a leucina 1 mM oppure a serina 500 mM più leucina; è stata infine aggiunta rapamicina 250 nM. In un altro esperimento è stata usata rapamicina 200 nM. I risultati sono descritti come rappresentativi di tre esperimenti indipendenti, salvo dove diversamente indicato. Per l'analisi SensOR ad alta espressione sono state esaminate più di 40 cellule in tre esperimenti indipendenti.Non sono riportati criteri di inclusione o esclusione, un piano di calcolo della numerosità, un endpoint clinico o un follow-up, poiché si tratta di un lavoro su cellule e proteine in laboratorio.

4. RISULTATI

In condizioni basali, S6K1 marcata con EGFP era presente in modo quasi equivalente nel citoplasma e nel nucleo delle cellule HEK293: il 54% dell'intensità fluorescente era citoplasmatica e il 46% nucleare, con deviazione standard del 10%. Questo dato indica che la proteina non è confinata stabilmente in un solo compartimento cellulare nel modello studiato.Quando S6K1 veniva coespressa con raptor marcata, S6K1 diventava prevalentemente citoplasmatica. L'aumento della quota citoplasmatica di S6K1 era proporzionale al livello di raptor nel citoplasma. La microscopia FRET-FLIM ha inoltre mostrato che la durata di fluorescenza di EGFP-S6K1 passava da 2,6 ± 0,01 nanosecondi quando S6K1 era espressa da sola a 2,4 ± 0,05 nanosecondi in presenza di raptor, con una riduzione fino a 2,3 ± 0,03 nanosecondi nel citoplasma. Una durata più breve è compatibile con una maggiore vicinanza fisica fra i due marcatori e sostiene l'interazione diretta fra S6K1 e raptor nelle cellule vive.La mutazione F28A nel motivo TOS, una breve sequenza di S6K1 coinvolta nel riconoscimento da parte di mTORC1, ha impedito la redistribuzione citoplasmatica indotta da raptor. Anche la coespressione di PRAS40 o 4E-BP1, proteine che

possono competere per l'interazione con raptor, ha ridotto la traslocazione di S6K1. Questi risultati sono coerenti con l'idea che il reclutamento dipenda dall'organizzazione della piattaforma proteica e non dalla semplice presenza casuale di S6K1 nel citoplasma.Rheb, regolatore a monte di mTORC1, ha aumentato di oltre due volte la fosforilazione di S6K1. In presenza di Rheb, il trattamento con rapamicina 200 nM ha ridotto tale fosforilazione di circa il 50%. Gli autori non hanno rilevato una forte interazione diretta di S6K1 con Rheb e hanno osservato soltanto una lieve riduzione della durata di fluorescenza fra mTOR e S6K1; il risultato è compatibile con un contatto debole o dinamico, ma non prova un legame diretto stabile.Con il biosensore SensOR, le cellule ad alta espressione hanno mostrato una durata media di 2,1 ± 0,06 nanosecondi nel citoplasma e 2,3 ± 0,01 nanosecondi nel nucleo. Dopo privazione di siero e amminoacidi, la durata citoplasmatica era 2,5 ± 0,03 nanosecondi; l'aggiunta di amminoacidi l'ha ridotta a 2,3 ± 0,02 nanosecondi, mentre la rapamicina l'ha riportata a 2,5 ± 0,04 nanosecondi. In una preparazione purificata, l'aggiunta di ATP ha ridotto la durata da 2,6 ± 0,01 a 2,0 ± 0,08 nanosecondi e ha aumentato di 4,7 volte la fosforilazione del biosensore. Nel modello sperimentale, questi dati supportano l'associazione fra conformazione ripiegata, fosforilazione e localizzazione citoplasmatica di S6K1.

5. INTERPRETAZIONE

In parole semplici, i risultati descrivono una sequenza nella quale S6K1 non sembra attivarsi in modo indistinto ovunque nella cellula. Raptor appare invece come una proteina che aiuta a posizionare S6K1 vicino al complesso mTORC1, soprattutto nel citoplasma, rendendo più probabile la fosforilazione. Il punto specificamente documentato è quindi il reclutamento cellulare di S6K1 in relazione a raptor e alla struttura funzionale di mTORC1.Il dettaglio molecolare è che il motivo TOS di S6K1 è necessario per la redistribuzione osservata con raptor e che la mutazione F28A ne riduce tale fenomeno. Inoltre, la riduzione della durata di fluorescenza nella FRET-FLIM è compatibile con la vicinanza fra S6K1 e raptor. Il biosensore indica che la fosforilazione di S6K1 avviene principalmente nel citoplasma nelle condizioni utilizzate.Il limite interpretativo principale è che lo studio usa sovraespressione di proteine fluorescenti in linee cellulari. Questa scelta rende possibili immagini in tempo reale, ma può modificare quantità, rapporti e localizzazione delle proteine rispetto alle cellule non manipolate. La traslocazione osservata sostiene un modello di reclutamento, ma non dimostra che essa sia obbligatoria in ogni tipo cellulare o in tutti i contesti fisiologici. La pubblicazione non dimostra l'intera catena descritta nel libro, come gli effetti successivi su sintesi proteica, crescita o metabolismo: documenta il passaggio iniziale di organizzazione e avvicinamento di S6K1 alla piattaforma mTORC1.

6. EVIDENZE INDIPENDENTI DI CONFERMA

Una prima conferma indipendente proviene da uno studio cellulare e biochimico che ha analizzato il motivo TOS di S6K1. Gli autori hanno mostrato che raptor lega S6K1 e 4E-BP1 attraverso i rispettivi motivi TOS e che una mutazione puntiforme del motivo elimina la componente di fosforilazione di S6K1 dipendente da raptor. Il risultato conferma direttamente il passaggio del libro secondo cui il reclutamento richiede una precisa organizzazione delle proteine della piattaforma. Il limite è che le prove derivano da esperimenti in vitro e in cellule coltivate, non da misurazioni nell'organismo umano [1].Un secondo lavoro ha fornito una verifica strutturale. Mediante cristallografia e microscopia elettronica criogenica, gli autori hanno ottenuto strutture di raptor legato a peptidi contenenti il motivo TOS umano di S6K1, 4E-BP1 e PRAS40. Il peptide di S6K1 occupava una scanalatura di raptor; mutazioni in residui chiave riducevano il legame. Questo risultato non osserva la traslocazione in cellule vive, ma conferma in modo indipendente il fondamento fisico del riconoscimento fra raptor e il motivo TOS di S6K1 [2].Un terzo studio ha mostrato che il reclutamento è regolato anche dalla competizione fra substrati. In fegato di topo e fibroblasti embrionali murini privi di 4E-BP1 e 4E-BP2, la fosforilazione di p70S6K1 su Thr389 dopo alimentazione era aumentata di 22 volte, contro sette volte nei controlli; nei fibroblasti, la fosforilazione indotta da IGF-1 era quasi doppia. L'aumento era associato a una maggiore interazione fra S6K1 e raptor. Poiché 4E-BP1 compete per raptor, lo studio mostra che il reclutamento di S6K1 dipende dalla composizione dinamica della piattaforma mTORC1 e non esclusivamente dalla quantità totale di

mTOR [3].Nel loro insieme, questi studi sostengono una catena convergente: il motivo TOS consente il riconoscimento, raptor offre una sede di aggancio e la disponibilità di altri substrati può modulare quanto S6K1 raggiunge il complesso attivo. Sono conferme indipendenti del meccanismo cellulare descritto dalla pubblicazione oggetto della Revisione delle prove, ma restano principalmente evidenze molecolari, cellulari e animali.

7. EVIDENZE DISCORDANTI

Un lavoro pubblicato nel 2021 propone un'interpretazione alternativa del ruolo del motivo TOS. In cellule HEK293 e linee tumorali, gli autori hanno osservato che eIF4E fosforilata, una proteina coinvolta nell'avvio della traduzione degli RNA messaggeri, può interagire con il motivo TOS di S6K1. Secondo questo modello, l'interazione con eIF4E ridurrebbe l'autoinibizione di S6K1 e ne favorirebbe l'attivazione; gli autori sostengono che il legame attribuito direttamente a raptor possa essere almeno in parte conseguenza di questo passaggio [4].Questa evidenza non nega che raptor sia una componente essenziale di mTORC1 né esclude le interazioni documentate da studi biochimici e strutturali. Propone però che il processo possa essere più complesso e dipendente dal contesto sperimentale, con eIF4E come possibile intermediario o regolatore aggiuntivo. Il lavoro è basato su modelli cellulari, mutanti e silenziamento genico; richiede quindi conferme da parte di gruppi indipendenti e non dimostra una sostituzione generalizzata del ruolo di raptor nei tessuti umani.

8. QUADRO COMPARATIVO E SINTESI DELLE EVIDENZE

La tabella distingue la pubblicazione oggetto della review dalle evidenze indipendenti usate per confermare o delimitare il passaggio del libro.

Quadro comparativo

Riferimento	Tipo di studio	Popolazione o modello	Risultato principale	Direzione dell'evidenza	Forza dell'evidenza
Studio originale	Cellulare e biofisico	Cellule HEK293 vive; proteine fluorescenti e biosensore SensOR	Raptor favorisce la localizzazione citoplasmatica di S6K1; la fosforilazione del biosensore è principalmente citoplasmatica.	conferma diretta	moderata
[1]	Cellulare e biochimico	Cellule coltivate e saggi in vitro	Raptor lega S6K1 attraverso il motivo TOS; la mutazione del motivo riduce la fosforilazione dipendente da raptor.	conferma diretta	moderata
[2]	Strutturale e biochimico	Complessi proteici purificati; peptidi TOS umani	La struttura di raptor riconosce direttamente il motivo TOS di S6K1.	conferma diretta	moderata
[3]	Animale e cellulare	Fegato di topo e fibroblasti embrionali murini	L'assenza di 4E-BP1/2 aumenta l'interazione S6K1-raptor e accelera la fosforilazione di S6K1.	conferma indiretta	moderata

[4]	Cellulare e molecolare	Cellule HEK293 e linee cellulari tumorali	Propone che eIF4E fosforilata interagisca con il motivo TOS di S6K1 e contribuisca alla sua attivazione.	evidenza discordante	preliminare

9. SINTESI EDITORIALE E CONCLUSIONI

CONCLUSIONI

Lo studio analizzato sostiene in modo specifico che S6K1 non venga fosforilata come proteina isolata, ma venga organizzata vicino a mTORC1 attraverso componenti della piattaforma, soprattutto raptor. Le evidenze indipendenti confermano che il motivo TOS è importante per il riconoscimento di S6K1 e che la disponibilità di raptor e di substrati concorrenti influenza la fosforilazione. La conclusione è ben sostenuta a livello meccanicistico, ma richiede validazione diretta nei tessuti umani e in condizioni fisiologiche non basate sulla sovraespressione proteica. L'ipotesi alternativa che coinvolge eIF4E suggerisce inoltre che il reclutamento possa comprendere regolatori aggiuntivi.

Aggiornato al 17/11/2026. Questo contenuto riflette una sintesi divulgativa delle evidenze scientifiche al momento della pubblicazione e non sostituisce il parere medico.

10. TRASPARENZA E RESPONSABILITÀ SCIENTIFICA

L'Intelligenza Artificiale è stata impiegata esclusivamente come strumento di supporto editoriale e documentale. Tutti i contenuti, le interpretazioni, le citazioni bibliografiche e le conclusioni sono stati verificati, revisionati e approvati dall'autore, che ne assume la piena responsabilità scientifica.

Il manoscritto è stato inoltre sottoposto a revisione tra pari (peer review) indipendente prima della pubblicazione.

Per garantire la massima trasparenza, la cronologia completa dell'articolo, comprensiva delle date di sottomissione, revisione, accettazione e pubblicazione, nonché delle informazioni sul processo di peer review, è disponibile nella pagina dedicata alla Storia dell'articolo.

11. RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

[1] **The Mammalian Target of Rapamycin (mTOR) Partner, Raptor, Binds the mTOR Substrates p70 S6 Kinase and 4E-BP1 through Their TOR Signaling (TOS) Motif**
Nojima et al., 2003
Journal of Biological Chemistry
DOI: https://doi.org/10.1074/jbc.C200665200

[2] **Mechanisms of mTORC1 activation by RHEB and inhibition by PRAS40**
Yang et al., 2017
Nature
DOI: https://doi.org/10.1038/nature25023

[3] **Mechanistic Target of Rapamycin Complex 1 (mTORC1)-mediated Phosphorylation Is Governed by Competition between Substrates for Interaction with Raptor**
Dennis et al., 2013
Journal of Biological Chemistry
DOI: https://doi.org/10.1074/jbc.M112.402461

[4] **mTORC1 induces eukaryotic translation initiation factor 4E interaction with TOS-S6 kinase 1 and its activation**
Majeed et al., 2021
Cell Cycle
DOI: https://doi.org/10.1080/15384101.2021.1901038