

- Yancy, W.S., Jr., Eisenson, H., Musante, G., Surwit, R.S., Millington, D.S., Butler, M.D., & Svetkey, L.P. (2009) *Cell Metab.*, 9, 311-326.
- 17) Kuzuya, T., Katano, Y., Nakano, I., Hirooka, Y., Itoh, A., Ishigami, M., Hayashi, K., Honda, T., Goto, H., Fujita, Y., Shikano, R., Muramatsu, Y., Bajotto, G., Tamura, T., Tamura, N., & Shimomura, Y. (2008) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 373, 94-98.
- 18) Hsiao, G., Chapman, J., Ofrecio, J.M., Wilkes, J., Resnik, J.L., Thapar, D., Subramaniam, S., & Sears, D.D. (2011) *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 300, E164-E174.

下村 吉治, 北浦 靖之, 門田 吉弘
(名古屋大学大学院生命農学研究科
応用分子生命科学専攻栄養生化学研究室)

Diversity of physiological functions of branched-chain amino acids

Yoshiharu Shimomura, Yasuyuki Kitaura, and Yoshihiro Kadota (Laboratory of Nutritional Biochemistry, Department of Applied Molecular Biosciences, Graduate School of Bio-agricultural Sciences, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya 464-8601, Japan)

HIFによる肝臓内糖・脂質代謝制御機構

1. はじめに

生体における代謝の中心臓器である肝臓は、肝小葉と呼ばれる最小基本単位の集合体からなる。肝小葉構造は、中心静脈を中心とし、門脈、肝動脈と胆管が集まった門脈三つ組みを頂点とする六角形をしている。肝臓の多彩な代謝機能を小葉内の肝実質細胞が均等に担っているわけではなく、小葉内の局在部位に依存して異なる代謝能を発揮することで、代謝の恒常性が維持されている。例えば、解糖系や薬物・解毒代謝に関わる酵素群は中心静脈領域（PC）の肝実質細胞で、糖新生や尿素合成に関わる酵素群は門脈領域（PP）において発現が有意に高い。このような小葉内における肝細胞の代謝機能の不均一性（領域特異性）を‘metabolic zonation’と呼ぶ¹⁾。この代謝領域特異性は胎生期には認められず、発生後の食事摂取による門脈血流の変化が血中のホルモン、栄養素や酸素などの小葉内濃度勾配を形成することで、重要な決定因子として働くと考えられている。一方、この metabolic zonation の破綻（小葉内機能的リモデリング）は肥満や糖尿病などの様々な代謝疾患

の発症につながると考えられ、近年、zonation 構築と維持に関わる分子機構の解明がなされてきたが、未知な点が多く残されている。本稿では zonation 形成に関わる分子機構として注目されている低酸素応答機構による肝内代謝制御機構について、最近の知見を交えて紹介する。

2. 小葉内酸素濃度と metabolic zonation

肝小葉は主に門脈からの血流を受け、流入してきた血液は肝小葉内の微小血管にあたる類洞血管を還流し中心静脈へと注ぐ。小葉内では門脈から中心静脈に向かって酸素分圧の急激な勾配が形成されており、類洞血管に沿って一列に配置されている肝細胞は、小葉内の局在部位によって異なる酸素濃度にさらされる。

肝小葉の metabolic zonation の初期概念は、糖代謝に関する知見に基づいている²⁾。PP の肝細胞は主に糖新生に関わる酵素 [G6Pase やホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ (PEPCK) など] の発現が、PC の細胞は解糖系酵素 [グルコキナーゼ (GK) や PK-L など] の発現が高い (図 1)。一方、アミノ酸代謝、中でもアンモニア代謝システムは糖代謝よりも明確な領域特異性を示し、PP の肝細胞は尿素合成に関わる酵素群 (CPS1 など) を強く発現し、グルタミン合成酵素は PC 周囲の細胞しか発現を認めない。脂質代謝の領域特異性は、糖やアミノ酸代謝と比較してそれほど明確ではない。脂肪酸やケトン体の生合成に関わる律速酵素は PC の肝細胞により強く発現しているが、脂肪酸 β 酸化の酵素群は肝小葉内に均一に発現している。しかし、ミトコンドリア代謝活性が PP で高いことから、脂肪酸酸化とケトン体合成は PP の肝細胞が主に担っている (図 1)。

小葉内 metabolic zonation は胎生期には認められず、生

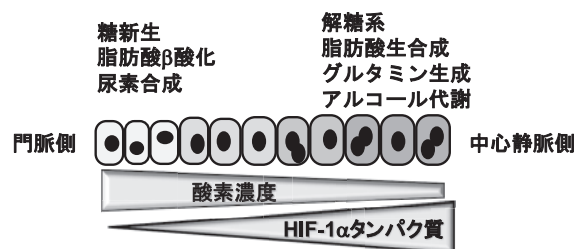


図 1 肝小葉内の代謝酵素発現

肝小葉内では、門脈側から中心静脈側に向かって血流が流れる。肝実質細胞は門脈側と中心静脈側では異なる代謝酵素を発現している。酸素を必要とする代謝系は門脈側に、逆に酸素をあまり用いない代謝系は中心静脈側に高い発現を示す。HIF-1 α タンパク質は、酸素濃度が低い中心静脈側の肝細胞に発現が高い傾向がある。

後 2 週間までに完成されることから、摂食による門脈血流の増加が zonation 形成に重要と考えられている。成熟個体における糖代謝酵素の小葉内分布が食事摂取前後で変化すること、またこの変化に伴って小葉内低酸素領域が門脈側に拡大することが報告されている¹⁾。さらに、*ex vivo* 灌流システムを用いて、中心静脈から門脈側に逆に灌流することで糖代謝に関わる酵素発現領域が反転することも報告²⁾されており、これらの知見は小葉内の酸素濃度勾配が重要な決定因子として作用していることを強く示唆している。このように糖代謝関連酵素の発現は、食事摂取や肝血流の方向性、つまり小葉内酸素濃度によってダイナミックに変化すると考えられるが、その制御機構については十分に分かっていない。

3. 低酸素感受・応答システムの分子機構

好氣的生物は、進化の過程で取り巻く酸素濃度を感知し、応答するシステムを構築してきた。このシステムを中心分子が転写制御因子 hypoxia inducible factor (HIF) である。HIF は酸素感受性サブユニットの α サブユニット

(HIF α) と恒常的に発現する β サブユニット (HIF β) のヘテロ 2 量体からなる¹⁾。通常酸素下では、HIF α は特定のプロリン残基 (ヒト HIF-1 α では 402 番目と 564 番目) が水酸化修飾されることで、E3 ユビキチンリガーゼ活性を有する von Hippel-Lindau (VHL) が抑制遺伝子産物に認識される。VHL との結合によりユビキチン化された HIF α は、プロテオソームで速やかに分解され、その結果通常酸素下では HIF の転写活性が抑制される。一方、低酸素下ではプロリン水酸化修飾が抑制され、安定化した HIF α は核内に移行後、HIF-1 β と 2 量体を形成し、標的遺伝子の発現制御を行う (図 2)。HIF にはこれまでに HIF-1 α 、HIF-2 α と HIF-3 α の三つの α サブユニットが報告されているが、本稿では高い転写活性を示しかつ、機能解析が進んでいる HIF-1 α と HIF-2 α のそれぞれから構成される HIF-1 と HIF-2 の二つを合わせて指す場合に HIF と記載させていただく。

HIF の転写活性が HIF α タンパク質の発現量により依存していることから、その安定化に関わる水酸化酵素 prolyl hydroxylase domain-containing protein (PHD) が低酸素応答

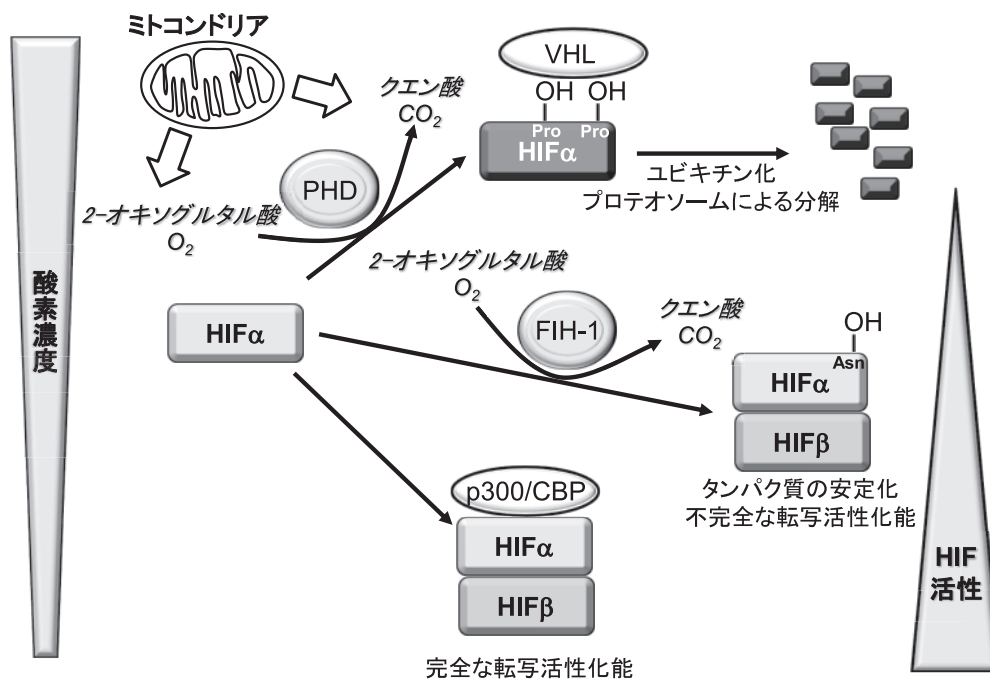


図 2 低酸素による HIF 活性化の分子機構

通常酸素下では HIF α は、酸素を基質とする PHD によりプロリン残基が水酸化を受ける。水酸化された HIF α は VHL によりユビキチン化され、速やかに分解される。少しでも酸素濃度が低下すると HIF α は安定化するが、FIH-1 によるアスパラギン残基の水酸化修飾が維持されているため、転写共役因子との結合が阻害され、不完全な転写活性化能しか示さない。さらに酸素濃度が低下すると、FIH-1 も酵素活性が低下し、HIF は完全な転写活性化能を有するようになる。

の決定因子として機能していると考えられる¹⁾。実際、PHDによる酵素反応では基質として酸素分子を要求し、その活性は酸素濃度依存性を示すことが報告されている。一方、HIF α のC末端近傍の転写活性化ドメインには、PHDと同様の反応により水酸化を受けるアスパラギン残基（ヒトHIF-1 α では803番目）が存在する。この水酸化修飾は、核内における転写共役因子CBPやp300とHIF α の複合体形成を抑制することで転写活性を減弱させる働きを持っているため、通常酸素下ではユビキチン化を逃れたHIF α が存在しても、HIFは完全な転写活性を持つことができない（図2）。アスパラギン残基の水酸化反応にはfactor inhibiting HIF-1 (FIH-1)が関与し、その酵素活性も酸素濃度依存性を示すが、酸素に対する K_m 値はPHDsのそれよりも低いため、低酸素にさらされるとまずHIF α のプロリン水酸化が抑制され、次いでアスパラギンの水酸化の抑制が起きると考えられている²⁾。また、PHDやFIH-1の酵素反応では2-オキソグルタル酸を基質として利用し、コハク酸を副産物として産生する。そのため、アミノ酸合成によるカタブレロティック反応（TCA回路の代謝産物を利用する反応を指し、この反応の結果としてTCA回路代謝産物量が減少する）で2-オキソグルタル酸の消費が増加する状況、あるいは酵素反応に抑制的に働くコハク酸、ピルビン酸、フマル酸やオキサロ酢酸が増加した場合には、水酸化反応が抑制されHIFの活性化が生じる。このことは、HIFの活性化には低酸素のみならずTCA回路を中心とした糖代謝による制御も重要な機構として働いていることを示唆している。

4. 肝糖新生制御因子としてのHIF-1

低酸素に応答してHIF-1が多くの解糖系酵素群の発現を誘導すること、また酸素濃度が低いPC領域の肝実質細胞優位にHIF-1 α タンパク質が恒常的に発現することから、HIF-1が小葉内糖代謝関連酵素のzonation形成に必須の分子であると考えられている。さらに、分離ラット肝細胞を用いた解析から、空腹時血糖に相当する低グルコース濃度では、PC領域の酸素濃度（8%）によりL型ピルビン酸キナーゼ（PK-L）の発現誘導が認められ、その発現誘導にHIF-1が関与していることが報告された³⁾。一方、高グルコース濃度によるPK-Lの発現誘導は、PPの酸素濃度（16%）下で強く認められ、逆に8%酸素下ではHIF-1依存性に抑制された。これらの知見は、酸素とグルコースの局所濃度変化が領域特異的な酵素発現に重要であり、またHIF-1とグルコース応答性転写因子（ChREBPあるいは

USF）が競合的にその制御に関わっていることを示唆している。そこで我々は肝臓特異的HIF-1 α 遺伝子欠失マウスを作製し、糖代謝関連酵素の肝小葉内発現変化を検討した。その結果は予想に反して、解糖系および糖新生系の糖代謝関連酵素の発現量とその小葉内分布には明らかな変化は認められなかった。アルブミンプロモーターを用いた肝細胞特異的な遺伝子欠損は胎生後期から生じることから、慢性的な欠失に対する何らかの代償機構が働いた可能性も考えられるため、次にマウス分離肝細胞を用いた実験を行った。その結果、ヘキソキナーゼ1、グルコキナーゼ（GK）、ホスホグリセリン酸キナーゼ（PGK-1）などの解糖系酵素の発現が低酸素（8%）に応答して増加すること、またその増加はHIF-1依存性を示すことを見いだした（未発表データ）。この結果は、前述した代償機構の存在を支持するものと捉え、現在急性のHIF-1 α 遺伝子欠損による肝小葉内metabolic zonationへの影響を解析している。

我々が解析した肝臓特異的HIF-1 α 遺伝子欠失マウスの血糖値、血中インスリン値や肝グリコーゲン含量はコントロール群と比較して明らかな変化を示さなかった^{4,5)}。一方、肝臓特異的HIF-1 β 遺伝子欠損マウスではC/EBP α を介した糖新生系酵素の遺伝子発現亢進が認められるものの、代償性インスリン分泌亢進によって血糖値の上昇は見られない⁶⁾。また、肝臓特異的VHL遺伝子欠損マウスでは、HIF-1 α 依存性のHNF4 α やPGC1 α の発現低下による糖新生系酵素の遺伝子発現低下とそれに伴う低血糖を示すことが報告されている⁷⁾。HIF-1 α 遺伝子欠損マウスは定常状態では肝内糖代謝の顕著な変化を示さなかったが、我々は70%肝切除後の再生肝で糖新生系酵素のPEPCKとPGK-1の発現誘導が減少すること、PEPCKの小葉内分布はPP有意であるがコントロールマウスと比較してより限局的であることを見いだした⁴⁾。また、再生肝ではグリコーゲン含量が増加するにも関わらずマウスが低血糖を示し（図3A）、アラニン負荷試験の結果（図3B）を合わせて考えれば、HIF-1 α 遺伝子欠損マウスの再生肝では糖新生能の活性化が抑制されていることが明らかになった⁴⁾。これらの知見はHIF-1が糖新生系に作用して血糖維持に関わることを強く示唆しているが（図4）、細胞レベルのHIF-1による解糖系酵素活性化を介した代謝制御と全く異なっている点が面白い。さらに我々は、HIF-1 α 遺伝子欠損マウスに高糖質・高脂質食を長期間投与したところ、インスリン抵抗性を伴った耐糖能異常を示すことを見いだした（図3C）⁵⁾。この2型糖尿病様の表現型には病態初期に起こる代償性GK発現誘導の抑制による肝臓の糖取り込

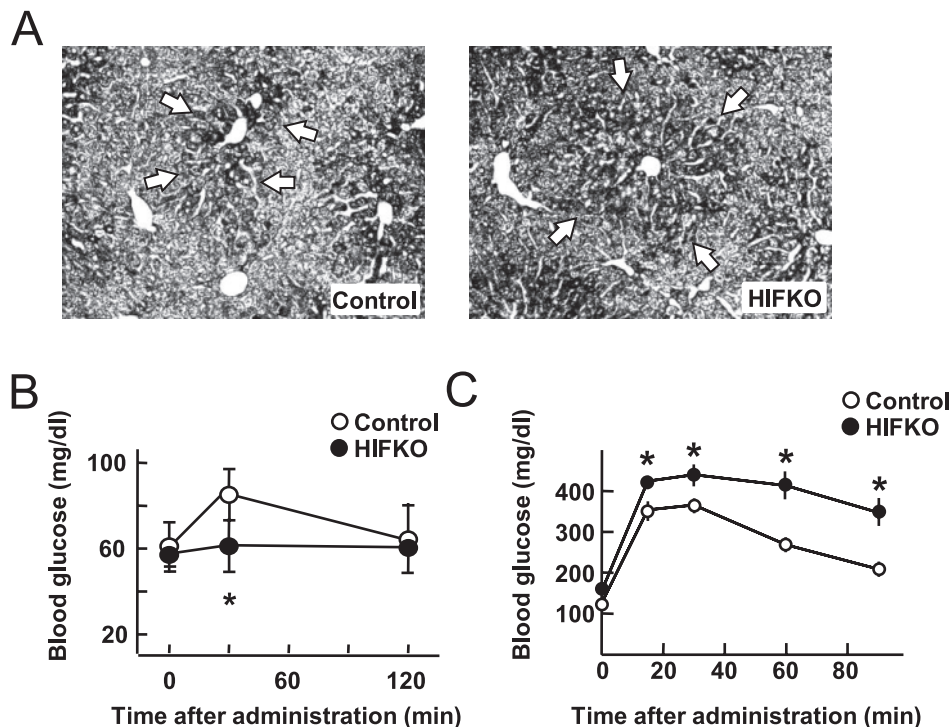


図3 肝糖代謝における HIF の機能

(A) 70% 肝切除後の肝臓におけるグリコーゲンの蓄積 (PAS 染色). 肝切除 72 時間後において, コントロールと比較して, 肝細胞特異的 HIF-1 α 遺伝子欠損マウスでは, PAS 染色領域の拡大とその強度の増強が認められた (矢印). (B) 70% 肝切除後のアラニン負荷試験後の血糖値変化. 肝切除 72 時間後において, コントロールと比較して, 肝細胞特異的 HIF-1 α 遺伝子欠損マウスではアラニン負荷後の血糖上昇が抑制されていた (文献 4 からの転用). (C) 長期高糖質・高脂質食投与後の耐糖能変化. 20 週間の高糖質・高脂質食により, コントロールと比較して, 肝細胞特異的 HIF-1 α 遺伝子欠損マウスの耐糖能は著しく低下した.

み低下が病態発症の一因として関わり, その結果生じる慢性的な食後高血糖が末梢組織のインスリン抵抗性を誘導している可能性があると考えている (図 4). しかしながら, GK 発現のみが HIF-1 α 遺伝子欠失により影響を受けることを考えれば, ここでも病態特異的な HIF-1 による肝糖代謝関連遺伝子の発現制御の存在が浮き彫りになった.

5. HIF を介した脂質代謝制御機構とその破綻による脂肪肝の発症メカニズム

HIF による肝脂質代謝制御に関する知見の多くは, 肝細胞特異的 VHL 遺伝子欠損マウスに基づいている⁷⁾. このマウスは重度の脂肪肝を呈することが報告されており, その病態発症には脂肪酸 β 酸化の抑制や脂肪滴形成に関わる ADRP (adipose differentiation-related protein) 遺伝子の発現亢進が関与していることが報告されている. また, ダブルノックアウトマウスの解析結果から, VHL 遺伝子欠損マ

ウスで認められる脂肪肝は HIF-2 α の活性化に起因することが明らかにされている (図 4). この報告に一致して, PHD2 と PHD3 のダブルノックアウトマウスでも HIF-2 依存性に重度の脂肪肝を呈することが報告されている⁸⁾. しかし一方で, 全身性の HIF-2 α 遺伝子欠損マウスでも脂肪肝を発症すること, また HIF-2 α の過剰発現では脂肪肝が発症せず, むしろ HIF-1 依存性に脂肪肝が発症するとの報告もある. さらに, HIF-1 が脂肪滴形成に関わる HIG2 (hypoxia-inducible protein2) の発現誘導に関わること⁹⁾, 心不全モデルにおける心筋内脂質蓄積において, HIF-1 が PPAR γ の活性化を介して脂質合成を活性化させることも報告されている¹⁰⁾. しかしながら, これら HIF α の過剰発現システムを用いた多くの解析結果は, ヒト病態で報告されているような肝小葉内発現パターンとは異なり, またその発現レベルも異常に高いことを考慮すれば, HIF の脂質代謝に対する病態生理学的な作用を議論できるものではな

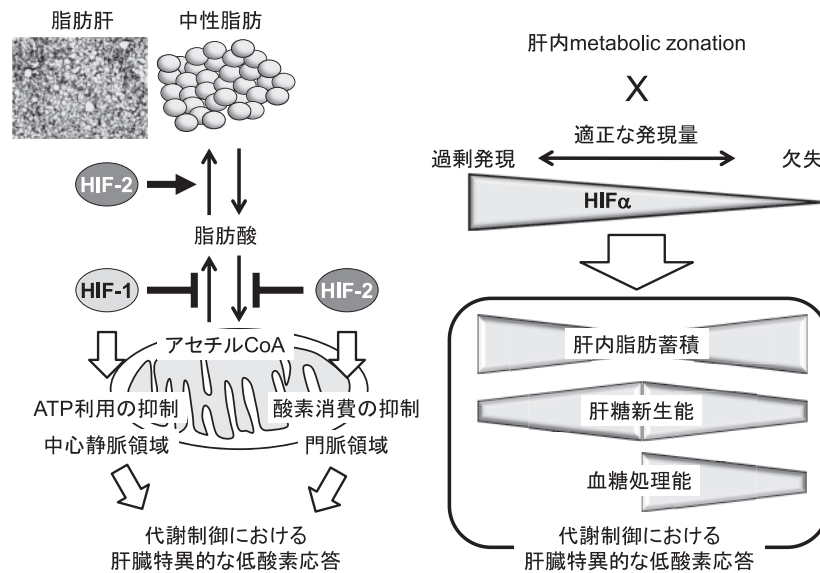


図4 HIFによる肝代謝制御機構

HIF-1はアセチル CoA からの脂肪酸合成を抑制し、HIF-2はミトコンドリアにおける脂肪酸β酸化の抑制と脂肪滴形成を亢進することで、HIF-1は抗脂肪肝作用を、HIF-2は脂肪肝促進因子として全く逆の作用を示す。この代謝制御には肝小葉内の領域特異性が関わり、結果として肝臓のATP消費とミトコンドリアの酸素消費の両方を抑制することになる(左図)。肝小葉内 metabolic zonation と肝臓内 HIFα 発現量の相互作用が、肝臓の代謝能を決定すると考えられる。肝臓内 HIFα 発現量が過剰あるいは逆に全く欠失すると、結果的に脂肪肝を発症する。また、同様に、肝糖新生活性や血液からの糖取り込み能も、適当な HIF の発現が必要で、HIF システムの破綻は低血糖や糖尿病の発症につながる(右図)。

いと考えられる。そこで、我々は肝臓特異的 *HIF-1α* 遺伝子欠失マウスを用いて、ヒト疾患における HIF-1 の脂質代謝制御機構の機能解析を行った。その結果、*HIF-1α* 遺伝子発現が上昇するアルコール性脂肪肝モデルを用いて、上記の報告とは逆の HIF-1 の抗脂肪蓄積作用を見いだした¹¹⁾。この作用発現には、HIF-1 による転写抑制因子 DEC1 (differentiated embryo chondrocyte 1) の発現亢進を介した脂肪合成促進転写因子 SREBP1c 発現抑制が関与していた。また、PHD 阻害剤投与ではコントロールマウスのアルコール性脂肪肝を抑制できるが、*HIF-1α* 遺伝子欠損マウスではこの効果が認められないことも明らかにした¹¹⁾。これらの知見は、アルコール摂取による脂肪肝形成において、HIF-2 よりもむしろ HIF-1 が抗脂肪蓄積因子として機能することを強く示唆していると考えられる(図4)。実際、この結果に一致して、アルコール性脂肪肝では *HIF-2α* の発現上昇が認められるものの、*HIF-2α* 遺伝子欠損マウスでは脂肪肝形成がコントロール群と同程度に起こることを確認している(未発表データ)。さらに最近筆者らは、コリン欠乏食投与による非アルコール性脂肪性肝炎

モデルにおいても、HIF-1 が抗脂肪蓄積抑制作用を有していることを見いだしている(投稿準備中)。これらの知見は、脂質代謝の metabolic zonation と病態により発現誘導される HIFα の小葉内局在の相関性が、病態特異的な HIF の脂質代謝制御機能発現に重要であることを示唆していると言える(図4)。

6. おわりに

肝臓の代謝機能は個々の肝実質細胞が担っており、その機能発現は取り巻く細胞環境に依存する。細胞環境因子群の中で、酸素は肝細胞自身の生死を規定する絶対的な分子としてだけではなく、本稿で紹介した知見に基づけば、個体としての正常な営みを支える肝代謝機能のファインチューニングにも関わる重要な因子と言える。脂肪肝、肝炎や肝線維症などの肝疾患では、肝細胞の酸素環境が慢性的に低酸素状態に陥るため、HIF を中心とした低酸素応答が稼働し肝代謝に多大な影響を及ぼす。このことは既存の治療法だけでは期待したほどの改善が見込めない肝疾患群に対して、低酸素を標的とした新たな予防・治療戦略の開

発が有効である可能性を提示している。しかしながら、本稿で紹介した知見から推察すると、HIF 発現の時空間的要素と強度を十分に加味することがその治療効果を上げるためには肝要であると言える。今後、酸素環境に基づく肝小葉構築と肝代謝機能発現に関わる分子機構のさらなる解明が進めば、様々な肝疾患の新たな予防や治療のみならず、人工臓器を用いた再生医療への応用へとつながることが期待される。

謝辞

本稿で紹介した研究成果の多くは、慶應義塾大学医学部の末松誠教授のご指導のもと、医学部医化学教室に配属された大学院生とともに行われたもので、この場を借りて改めて御礼申し上げたい。

- 1) Semenza, G.L. (2009) *Physiology*, 24, 97–106.
- 2) Jungermann, K. & Kietzmann, T. (1996) *Annu. Rev. Nutr.*, 16, 179–203.
- 3) Kronen, A., Jungermann, K., & Kietzmann, T. (2001) *Endocrinology*, 142, 2707–2718.
- 4) Tajima, T., Goda, N., Fujiki, N., Hishiki, T., Nishiyama, Y., Senoo-Matsuda, N., Shimazu, M., Soga, T., Yoshimura, Y., Johnson, R.S., & Suematsu, M. (2009) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 387, 789–794.
- 5) Ochiai, D., Goda, N., Hishiki, T., Kanai, M., Senoo-Matsuda, N., Soga, T., Johnson, R.S., Yoshimura, Y., & Suematsu, M. (2011) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 415, 445–449.
- 6) Wang, X.L., Suzuki, R., Lee, K., Tran, T., Gunton, J.E., Saha, A.K., Patti, M.E., Goldfine, A., Ruderman, N.B., Gonzalez, F. J., & Kahn, C.R. (2009) *Cell Metab.*, 9, 428–439.
- 7) Rankin, E.B., Higgins, D.F., Walisser, J.A., Johnson, R.S., Bradfield, C.A., & Haase, V.H. (2009) *Mol. Cell. Biol.*, 29, 4527–4538.
- 8) Minamishima, Y.A., Moslehi, J., Padera, R.F., Bronson, R.T., Liao, R., & Kaelin, W.G. Jr. (2009) *Mol. Cell. Biol.*, 29, 5729–5741.
- 9) Gimm, T., Wiese, M., Teschemacher, B., Deggerich, A., Schödel, J., Knaup, K.X., Hackenbeck, T., Hellerbrand, C., Amann, K., Wiesener, M.S., Höning, S., Eckardt, K.U., & Warnecke, C. (2010) *FASEB J.*, 24, 4443–4458.
- 10) Krishnan, J., Suter, M., Windak, R., Krebs, T., Felley, A., Montessuit, C., Tokarska-Schlattner, M., Aasum, E., Bogdanova, A., Perriard, E., Perriard, J.C., Larsen, T., Pedrazzini, T., & Krek, W. (2009) *Cell Metab.*, 9, 512–524.
- 11) Nishiyama, Y., Goda, N., Kanai, M., Niwa, D., Osanai, K., Yamamoto, Y., Senoo-Matsuda, N., Johnson, R.S., Miura, S., Kabe, Y., & Suematsu, M. (2012) *J. Hepatol.*, 56, 441–447.

合田 亘人

(早稲田大学理工学術院)

HIF-mediated regulation of carbohydrate and lipid metabolisms in the liver

Nobuhito Goda (Faculty of Science and Engineering, Waseda University, 2-2 Wakamatsu-chou, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8480, Japan)

FRET バイオセンサーによって明らかとなった上皮構造維持における低分子量 G タンパク質 Rac1 の役割

1. はじめに

緑色蛍光タンパク質 (green fluorescent protein: GFP) を用いた低分子量 G タンパク質の活性を検出する FRET バイオセンサー Raichu が登場してから約 10 年が経過した。これまで困難であったバイオセンサーの恒常的発現が成功し、数日から数週間かかる極性形成過程の信号伝達を可視化することが可能となった。本稿では試験管内で構築した 3 次元構造における Rho ファミリー G タンパク質群の空間的活性分布、その意義について最近の知見を紹介する。

2. FRET バイオセンサー

FRET とは、Förster resonance energy transfer (蛍光共鳴エネルギー移動と意識されている) の略で、励起された蛍光分子 (ドナー) からごく近傍にある蛍光分子 (アクセプター) へエネルギーが共鳴により移動する現象のことである。この原理に基づき、GFP を用いたバイオセンサー (以下、FRET バイオセンサーと略す) は、宮脇敦史博士が Tsien 博士と開発したカメレオンが第一号であり、細胞内カルシウム濃度を測定する。それ以降、様々なバイオセンサーが開発されているが、基本ユニットはほぼ同じで、2 種類の蛍光タンパク質と、タンパク質の全長あるいは一部が 1~2 個、それらをつなぐリンカーから構成される。

低分子量 G タンパク質は典型的な分子スイッチであり、GDP に結合している OFF の状態と GTP に結合している ON の状態とを取る。細胞内にはそれぞれの GTP 型を特異的に認識するタンパク質群 (= 標的タンパク質) が存在し、下流に信号を特異的に伝達する。従って、GTP 結合型の量を計測することが活性を測定することになる。現在