特集:膜輸送ナノマシーンの構造・作動機構と制御

酵母のグルコース輸送体の構造と機能

笠 原 敏 子, 笠 原 道 弘1,2

糖は多くの生物にとってなくてはならないエネルギー源であり、細胞膜を横切って糖を細胞内に取り込むことが最初の重要なステップとなる。酵母 Saccharomyces cerevisiae は広範囲の濃度の糖を利用しており、17種のグルコース輸送体を持つ。これら酵母のグルコース輸送体は哺乳類の促進拡散系糖輸送体(GLUTファミリー)と同じく、major facilitator superfamily(MFS)に属し、12回膜貫通型の膜タンパク質である。近年、MFSに属する大腸菌の3種の輸送体の結晶構造が明らかになり、輸送体の構造と機能の研究がさらに進展した。酵母のグルコースへの親和性が異なる2種の糖輸送体間で網羅的系統的なキメラ輸送体を作成し、その解析から高親和性糖輸送を維持するのに必須の複数のアミノ酸残基が同定され、さらに、そのうちの一つの残基が親和性の大小と基質特異性の決定に寄与していることが明らかになった。

1. はじめに

糖は大腸菌から哺乳類に至る広範な生物において主要な代謝の出発点であり、エネルギー源でもある。生物が外界の糖を利用するには、親水性の糖を疎水性の細胞膜を横切って細胞内にとりこむことが最初のステップである。この働きを細胞膜にある"糖輸送体(sugar transporter)"が担っている。従って、これら生物にとって、糖を利用するためには、糖輸送体はなくてはならないもので、糖輸送体の変異はヒトにおいては重篤な疾病となって現れる。"糖輸送体"は、糖や様々な有機物を輸送する1,000以上のメンバーが知られている大規模な輸送体ファミリー major facilitator superfamily(MFS)の一員である」。MFS に属する輸送体は輸送する物質(以下、基質と呼ぶ)や、輸送の形式は様々であるが、いくつかの例外を除いて、共通の構造

¹帝京大学医学部物理学教室、²帝京大学ゲノム解析リサーチ・センター(〒192-0395 東京都八王子市大塚 359)

Structure and function of hexose transporters in the yeast, Saccharomyces cerevisiae

Toshiko Kasahara¹ and Michihiro Kasahara^{1,2} (¹Laboratory of Biophysics, School of Medicine, ²Genome Research Center, Teikyo University, 359 Otsuka, Hachioji, Tokyo 192–0395, Japan)

を有する. ほとんどの輸送体は 12 回膜貫通型であるが、14 回または 24 回の膜貫通型のものも知られている. いずれも、N 末端、C 末端が細胞内にある. 糖輸送体の基質認識の分子機構や三次元構造の情報はほとんどなかった. しかし、MFS に属する大腸菌の二つの輸送体、ラクトースパーミアーゼ(LacY)とグリセロール 3-リン酸輸送体(GlpT)の結晶構造が 2003 年に明らかにされて、新しい時代を迎えた^{2,3)}. この両者はアミノ酸配列が異なり、基質も異なるが、中心に基質の通過するポアを持っている 2 回対称の三次元構造は非常に良く似た構造をしていた. このことから、MFS に共通する輸送機構の存在が示唆される. 事実、やはり MFS に属する、大腸菌の多剤排出トランスポーター EmrD⁴¹や低解像度の像しか得られていないが細菌(Oxalobacter formigenes)のシュウ酸とギ酸交換輸送体OxIT⁵¹でも、同様の構造が見られる.

我々は、糖輸送体の基質認識機構の解明を目的として、遺伝的な操作法が確立されていて、1996年に全ゲノム配列が明らかになり、糖輸送体ファミリーとして全33個の遺伝子が同定されている酵母 Saccharomyces cerevisiae(以下、酵母と表記する)の糖輸送体に注目した $^{6-8}$. 33個の糖輸送体ファミリーの内訳はヘキソース輸送体に17個、イノシトール輸送体に2個、マルトース輸送体に4個、glucose sensor に2個、その他機能不明も含めて8個(図1)

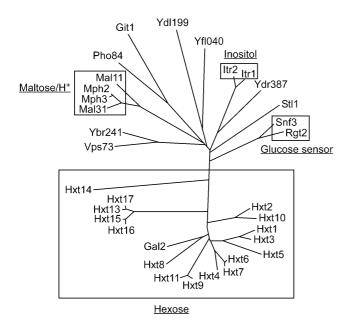


図1 酵母 Saccharomyces cerevisiae の糖輸送体の系統樹文献 6-9 から改変

である. ヘキソース、イノシトール輸送体は、エネルギーを使わないで濃度勾配によって輸送する促進拡散型輸送体(facilitated diffusion)である. マルトース輸送体は、水素イオンを共役陽イオンとして利用する二次性能動輸送体(secondary active transporter)で前者とはエネルギー共役において異なっている.

酵母が自然環境下で利用する主な糖は、果汁で、果汁の グルコース濃度は、未熟時の数 μM から、完熟時の 2M 程 度までに至る場合があり、きわめて広範囲に変化する. こ の広範囲の濃度の糖を環境の変化に応じて利用するため, 極めて多数の糖輸送体を有すると考えられている. グル コース輸送体にはHxt1-17とGal2で、合わせて17種 (HXT 12 は pseudogene なので除く) ある⁹. 通常の生育下 では Hxt5, Hxt8-17 の発現はきわめて低いので, Hxt1-4, Hxt6, Hxt7 が酵母の主要なグルコース輸送を担っている と考えられる¹⁰⁾. また, Gal2 はグルコースを輸送するが, Hxt1-4, Hxt6, 7とは大きく異なって, ガラクトースも輸 送する.しかし、培養液中のグルコースで抑制され、培養 液中にガラクトースがないと発現しないので、自然環境下 で広範囲のグルコースを利用するために働いているのは, Hxt1-4, Hxt6, 7と考えられる. 通常, 細胞外のグルコー ス濃度が高い状態で発現しているのは Hxt1. Hxt3 である. 細胞外のグルコース濃度が下がると、Hxt2、Hxt4、Hxt6、 Hxt7 の発現が誘導され、細胞外のグルコースの濃度が高 くなるとこれらの輸送体の発現は抑制される. このことか ら前者グループが低親和性のグルコース輸送体、後者のグ ループが高親和性のグルコース輸送体であることが推測さ れる. このことを確かめるため主要なグルコース輸送体を

表 1 酵母 S. cerevisiae の糖輸送体 Hxt1-7 のグルコース輸送の 性質

主要なグルコース輸送体 Hxt1-7, Gal2 の欠損株 KY73 にそれぞれの輸送体を発現し輸送活性を $^{\text{H}}$ C グルコースの 30 $^{\text{C}}$ で 5 秒間の取り込みで測定した.

糖輸送体	アミノ酸	グルコース輸送	
	残基数	$K_{\rm m}$ (mM)	$V_{\rm max}$ (pmol/10 ⁷ cells/5s)
Hxt1	570	46	2,800
Hxt2	541	3.3	1,200
Hxt3	567	15	2,400
Hxt4	576	1.9	1,700
Hxt5	592	1.4	600
Hxt6	570	0.4	400
Hxt7	570	0.4	400

欠損した変異株 KY73 (hxt 1-7, gal 2) に単一のグルコース輸送体を発現して、活性を調べたところ、**表**1 の結果を得た. 低親和性の輸送体 Hxt1, Hxt3 高親和性の輸送体 Hxt2, Hxt4, Hxt5, 非常に高親和性の輸送体 Hxt6, Hxt7, の三つに分類できる. 同様の結果を Reifenberger らも得ている¹¹¹. 最も親和性の低い Hxt1 と最も親和性の高い Hxt6, 7 では K_m にして約 100 倍異なっていた.

これら酵母の糖輸送体は相同であるが、二つの特徴的な 相異:1) ガラクトースを輸送するかしないかという輸送 基質の違い,2) グルコースへの親和性の違い,をあげる ことができる. これらの違いが、輸送体のどの領域の構造 の違いによるのか、また違いをもたらす領域のどのアミノ 酸残基(以下アミノ酸と略称する)の違いによるのかを明 らかにすることは、糖輸送体の基質認識機構の解明への第 一歩である。また、これまで行われてきた部位特異的変異 法では、輸送体の一つのアミノ酸に注目し、そのアミノ酸 を他のアミノ酸に置き換えると,活性を消失することか ら、輸送活性に必須のアミノ酸を見出そうという手法が主 であった.この方法の暗黙の前提は,一つのアミノ酸の置 換による影響はそのアミノ酸に限局されて,その他の領域 には影響を及ぼすことがないというものであるが、この期 待に反して一つのアミノ酸の置換によるグローバルな効果 も無視できないことが次第に明らかになった. この事態を 克服するため, "Loss of function" を指標にするのでなく "Gain of function"を指標に、機能の維持に必要なアミノ 酸を見出すアプローチを考えた.2種の明瞭に性質の異な るホモログ間で網羅的キメラを作成し、その解析から、片 方の輸送体が持つ特徴的な機能発現に必須のアミノ酸を見 出す方法である. 網羅的なキメラの解析には多数のキメラ の性質を調べる必要があるが、酵母が対象である利点を生 かして、細菌と同様に寒天培地上での選択を利用し研究を 進めた.

2. ガラクトース輸送に必須のアミノ酸残基

グルコースとガラクトースは4位のOHの配位が異なる立体異性体である. Gal2 はガラクトースもグルコースも輸送するが, Hxt2 はグルコースは輸送するがガラクトースは輸送できない. この基質認識の違いを明らかにするため, Gal2 と Hxt2 の2種の相同輸送体間で網羅的なキメラを作って解析した(図2)(この仕事については,生化学69,1081-1093,1997で詳しく述べたので,簡単に解説したい).

Gal2, Hxt2 は12回膜貫通型タンパク質で,両者の間で は、N端、C端の尾部を除いて、約7割のアミノ酸が同一 である. HXT 2, GAL 2 欠損株 LBY 416 で, C源を 0.02% ガラクトースにしたとき, ガラクトース輸送活性を持つも のだけを寒天培地上で選択できた.次に、大腸菌のhomologous recombination を利用し、Gal2 と Hxt2 が 1 回だけ 置き換わるキメラ輸送体を網羅的系統的に作成した12)(図 2A). 輸送体の前半部分が Gal2, 後半部分が Hxt2 のキメ ラ輸送体では、大部分が Gal2 で構成される必要があり、 後半の Hxt2 の部分が 100bp 以下でないとガラクトース輸 送活性は見られなかった. 逆に前半部分が Hxt2, 後半部 分が Gal2 であると、Gal2 の部分が 400bp 以上あれば、ガ ラクトース輸送活性が見られた. この 400bp の Gal2 の領 域をC末端から少しずつHxt2に置き換えて,Hxt2でサン ドイッチするキメラ型にして, ガラクトース輸送に必須の Gal2 部分を, 膜貫通領域 10, 11, 12 を含む 101 アミノ酸 (303bp) にまで狭めることができた.

次にこの部分に制限酵素のサイトを作って更に 4 分割し た¹³⁾ (図 2B). 対応する Hxt2 の部分にも同様に 4 個の制 限酵素のサイトを作り4分割した.この4分割したどの領 域 (あるいは複数の領域) の Gal2 が必要なのか, 両者の すべての組み合わせ24=16通りのキメラ輸送体を作成し た. その結果、ガラクトース輸送活性を持つ輸送体はすべ て、4分割の最初の部分が Gal2 であった. この部分には 膜貫通領域 10 を含む 35 個のアミノ酸があり、Gal2、Hxt2 間では23個が共通で12個が異なるだけであった。この 12個のアミノ酸を同時にランダムに置換して, 25,000個 のクローンをライブラリーとして作成し, ガラクトース輸 送活性を持つクローンを選択した¹⁴⁾ (図 2C). 通常の部位 特異的変異では1箇所のアミノ酸変異に対して、20個の アミノ酸の可能性があり、12個の変異では2012個のク ローンが飽和変異に必要であるが、キメラ作成による変異 では、Gal2かHxt2かのどちらかのアミノ酸の可能性を調 べるだけなので、全体で 212=4,096 個のクローンで飽和変 異が可能となる. 飽和変異の結果, Gal2の膜貫通領域 10 の二つのアミノ酸 Tyr-446 と Trp-455 が重要であることが 明らかになった. ガラクトース輸送ができない Hxt2 の, 対応する二つのアミノ酸 Phe-431, Tyr-440 を Gal2 の Tyr,

Trp に置換するとガラクトース輸送を行うようになった. 膜貫通領域 10 の二つの芳香族アミノ酸が直接に基質認識 に関わっていると考えられる. この二つの場所のアミノ酸 を他の 19 個のアミノ酸にそれぞれ置換して輸送活性を調べると, Tyr-446 が必須で, Trp-455 が副次的な役割を果たすアミノ酸であることが明らかになった.

3. 高親和性グルコース輸送体 Hxt2 の高親和性グルコース輸送に必須なアミノ酸残基

Hxt2と同じ MFS に属する LacY, GlpT, EmrD の結晶構造から,基質の輸送 pathway は複数の膜貫通領域が囲む形で形成されていることが明らかになった。そこで、我々は親和性の決定にどの膜貫通領域のアミノ酸が関与しているか、膜貫通領域に焦点をしぼって研究を進めた。

酵母の HXT 1-7, GAL2 欠損株 KY73 を用い,高親和性グルコース輸送体 Hxt2 (グルコースに対する K_m が 3.3 mM) と低親和性グルコース輸送体 Hxt1 (グルコースに対する K_m が 46mM) をそれぞれ発現した。 KY73 は 2% グルコースを唯一の C 源とする合成寒天培地(S2D 培地)では生えることができない。 Hxt1 や Hxt2 などのグルコース輸送体を導入すると, S2D 培地で生えることができる。このグルコースの濃度を下げて,高親和性グルコース輸送体 Hxt2 が導入された細胞のみが生育できる 0.1% グルコースを C 源とする培養条件(S0.1D 培地)を得た。

Hxt1, Hxt2 は 12 回膜貫通型タンパク質で、両者の間では、N 末端、C 末端においては、長さも構成するアミノ酸の種類も異なるが、膜貫通領域、膜貫通領域間のループは長さも等しく、約 70% のアミノ酸が同一である。各膜貫通領域に 21 個程度のアミノ酸があり、全膜貫通領域では約 250 個のアミノ酸がある。そのうちの 75 個のアミノ酸が両者で異なる(図 3)。この 75 個のアミノ酸が親和性を決定するアミノ酸の候補となる。

三つのステップにより解析を行った。第1段階として、Hxt2の12個の膜貫通領域のうち、どの膜貫通領域が高親和性グルコース輸送に必須なのか調べた150. Hxt2の12個の膜貫通領域を対応するHxt1の膜貫通領域にランダムに置換する transmembrane shuffling を行った。この方法で212 = 4,096通りのキメラをライブラリーとして作成して、S0.1D培地で生えてくる、高親和性グルコース輸送活性を有する48個のキメラ輸送体を得た。これのキメラ輸送体の各膜貫通領域がHxt1由来か、Hxt2由来か調べたが、48個のキメラ輸送体すべてにおいて、5番目の膜貫通領域はHxt2由来であった。また、1番目、7番目、8番目は1個ずつ例外はあったが残りはすべてHxt2由来であった。他の膜貫通領域ではHxt1、Hxt2由来が混在していた。この結果は、Hxt2の1、5、7、8番目の膜貫通領域のいずれかが高親和性グルコース輸送活性に必要であること、他

600 [生化学 第 79 巻 第 6 号

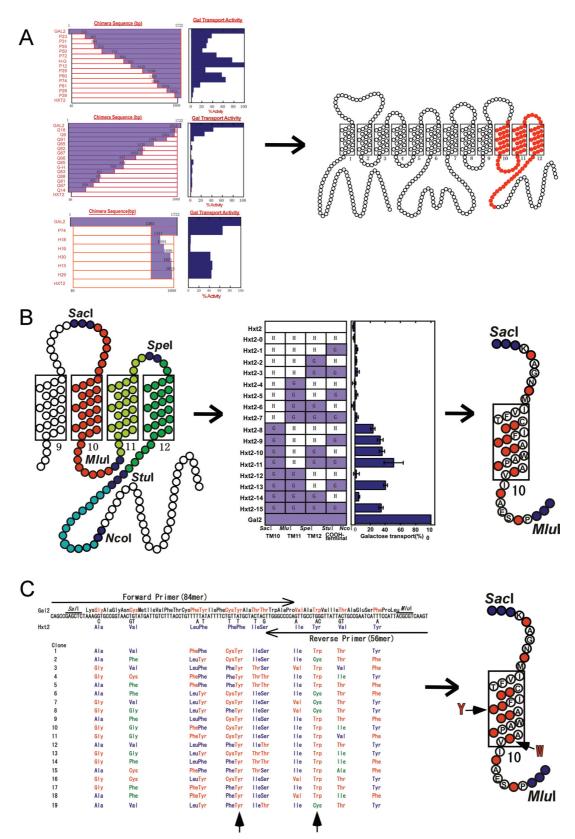


図 2 網羅的キメラ解析による酵母ガラクトース輸送体 Gal2 のガラクトース輸送に必須のアミノ酸の同定

- A. 大腸菌の homologous recombination を利用して、網羅的系統的に多数のキメラを作成した。C 末端に近い 101 アミノ酸領域があればガラクトース輸送活性を示すことがわかった。
- B. 101 アミノ酸領域を 4 分して、16 個のキメラ解析から膜貫通領域 10 を含む領域に限局した. 赤色の丸 印は Gal2 と Hxt2 に共通なアミノ酸を示す.
- C. 膜貫通領域 10 を含む領域の 12 個のアミノ酸の飽和変異からガラクトース輸送に Tyr-446 が必須, Trp-455 が副次的な役割を持つと同定した.

2007年6月〕 601

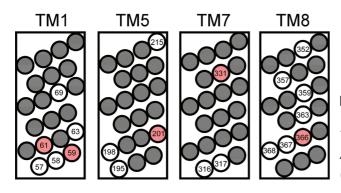


図4 酵母の高親和性グルコース輸送体 Hxt2 の膜貫通領域 (TM) 1, 5, 7, 8

一つの丸印が一つのアミノ酸を表す.灰色の丸印は低親和性グルコース輸送体 Hxtl と共通のアミノ酸.赤色の丸印は親和性決定に関与しているアミノ酸(文献17).丸印の中の番号は Hxt2 におけるアミノ酸の番号.

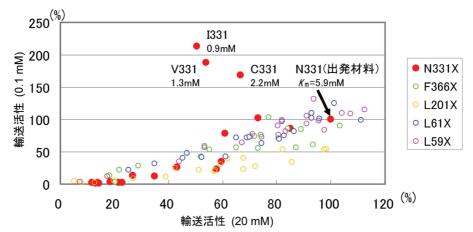


図5 高親和性グルコース輸送体の親和性を決定するアミノ酸

酵母の高親和性グルコース輸送体 Hxt2 の高親和性グルコース輸送に必要な膜貫通領域 1,5,7,8 を除く他の膜貫通領域を低親和性グルコース輸送体に置換したキメラ輸送体(C 1578)を用い変異体を作成した。高親和性グルコース輸送に重要であると同定された五つのアミノ酸、Leu-59、Leu-61、Leu-201、Asn-331、Phe-366をそれぞれ他の19個のアミノ酸に置換して、グルコースの輸送活性を測定した。縦軸が0.1mM グルコース、横軸が20mM グルコースを基質とした輸送活性を C1578 の活性を 100% として表示してある。Leu-59(ピンク)、Leu-61(青)、Leu-201(黄)、Asn-331(赤)、Phe-366(緑)を置換した変異体を示す。Asn-331を Ile(I331)、Val(V331)、Cys(C331)に置換したものは C1578 より高い親和性の輸送活性を示した。

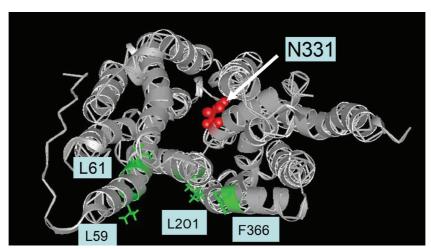
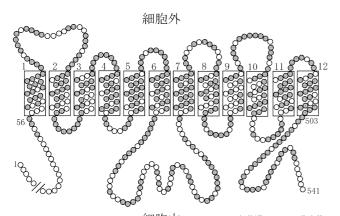


図 6 高親和性グルコース輸送体 Hxt2 のグルコース輸送に関わる重要なアミノ酸

大腸菌のグリセロール 3-リン酸輸送体 (GlpT) をテンプレートとしてホモロジーモデルを作成した. 細胞の内側からみた図. 高親和性グルコース輸送に重要なアミノ酸を示す. Asn-331 は中心のポアに面していたが、その他のアミノ酸は周辺部の疎水性領域に存在していた.

〔生化学 第79巻 第6号



細胞内 ● Hxt1と共通のアミノ酸残基

図3 酵母の高親和性グルコース輸送体 Hxt2 のトポロジーモデル

一つの丸印が一つのアミノ酸を表す.灰色の丸印は低親和性グルコース輸送体 Hxtl との共通のアミノ酸を示す.膜貫通領域では約70%のアミノ酸が共通である.N末端の部分は長いので途中のアミノ酸を省略して表記.N末端,C末端の尾部の長さは両者で異なり,HxtlがN末端で9個,C末端で20個長い.

の領域は低親和性グルコース輸送体 Hxt1 のものでも補完できることを示唆している。次に、Hxt2 の膜貫通領域をすべて Hxt1 に置き換えたキメラを作成し、この輸送体の膜貫通領域 1, 5, 7, 8 を対応する Hxt2 の膜貫通領域で、すべての組み合わせ($_{1}C_{1}+_{1}C_{2}+_{4}C_{3}+_{4}C_{4}=15$)で置換した 15 個のキメラ輸送体を作成し、活性を調べた。その結果、Hxt2 と同様の活性を持つには膜貫通領域 1, 5, 7, 8 すべてを Hxt2 のものに置換することが必要なことが明らかになった。

第2段階として、Hxt2の膜貫通領域1,5,7,8内で、 どのアミノ酸が高親和性グルコース輸送活性に必須なのか 調べた¹⁶. Hxt2の膜貫通領域 1, 5, 7, 8のアミノ酸のう ち Hxt1 と異なるものは 20 個であった (図 4). これらを 対応する Hxtl のアミノ酸とランダムに置き換えた変異体 を作り、高親和性グルコース輸送を示すものを解析した. まず、各膜貫通領域で飽和変異を行った。その結果60個 のキメラ輸送体が得られた. このすべての輸送体が膜貫通 領域5のHxt2由来のアミノ酸Leu-201を有していた.こ のアミノ酸を Hxt1 由来の Val に置換すると、高親和性グ ルコース輸送活性を失うことから、重要なアミノ酸である と考えた. また60個のキメラ輸送体において,20箇所の 変異部位のうち 5 箇所で Hxt1 由来のアミノ酸が 50% 以上 存在した. この5箇所のHxt2のアミノ酸は重要でないと 考えた. 事実, この5箇所のアミノ酸を Hxt1 に置換した ものの輸送活性は高親和性であった. Leu-201 と重要でな いアミノ酸5箇所,計6箇所を除いた残りの14箇所につ いて次に検討した.この14箇所を同時にランダムに、対 応する Hxtl のアミノ酸で置換し高親和性グルコース輸送 活性を有するクローンを SO. 1D 培地で選択して, 17 個の

クローンを得た. Leu-201 を含む 5 個の重要なアミノ酸 (膜貫通領域 1 の Leu-59, Leu-61, 膜貫通領域 7 の Asn-331, 膜貫通領域 8 の Phe-366) を得た (図 4). この 5 個の必須のアミノ酸とそれを補助する 3 個のアミノ酸, 計 8 個の 9 Hxt2 のアミノ酸があれば高親和性グルコース輸送活性を持つことがわかった170.

第3段階として、5個の重要なアミノ酸のいずれが親和性決定に主として関与しているかを調べた.これら5個のアミノ酸について、それぞれ他の19個のアミノ酸で置換して合計100個の輸送体のグルコース輸送活性の変化を調べた.その結果、唯一、膜貫通領域7のAsn-331のみが、置換するアミノ酸によって、グルコースに対する親和性を大きく変えることがわかった(図5).特に、Ile、Cys、Valで置換したときには、Hxt2以上の高親和性グルコース輸送活性を示した.この三つのステップを経て、Hxt2の75個の候補アミノ酸から1個のアミノ酸に絞り込むことができた(J. Biol. Chem., vol. 282, pp. 13146-13250 (2007)).

網羅的なキメラ解析により、他の方法では得ることが難しいだろう結果に到達できた.この方法を適用するには明確に性質の異なるホモローグが存在することと適切な選択条件があることが前提条件である.一方、この方法の欠点としては、両者に共通な性質(しばしばそれが重要なことが多いが)については追及できないことで、万能な方法ではない.

MFS に属し、アミノ酸レベルの解像度で結晶構造の得られている GlpT を鋳型として、このキメラ輸送体のホモロジーモデルを構築した(図 6). 高親和性グルコース輸送活性に重要な 5 個のアミノ酸のうち Asn-331 のみが、輸送物質の通り道である中心のポアに面しており、しかも、ほぼ中央のロート状の細くなった部分に位置していた. 残りの 4 個はポアには面しておらず周辺部にあった. これらは直接輸送基質を認識するのでなく、輸送体全体のコンフォメーションを保つために働いていることが示唆される. 高親和性の輸送の発現には非常にデリケートな構造を保つ必要があることが推測される.

また、このホモロジーモデルでは、グルコース輸送体 Hxt2 とガラクトース輸送体 Gal2 の網羅的なキメラの解析 から得た、Gal2 のガラクトース認識に必須のアミノ酸 Tyr-446 に対応する Hxt2 の Phe-431 も中心のポアに面して いた 17 .

4. 動物細胞の糖輸送体

我々の研究の対象は酵母の輸送体であるが、ここで明らかになった基質認識に関わる重要なアミノ酸は、酵母に特異的なものではない.

Gal2, Hxt2の研究から明らかになった膜貫通領域 10の 二つの芳香族のアミノ酸は哺乳類の糖輸送体 GLUT1(ヒ トでは SLC2A1)においても Phe-379, Trp-388 として、芳香族アミノ酸で保存されている。この各々のアミノ酸を他の 19 個のアミノ酸に置き換えて輸送活性を調べた¹⁸⁾. Trp-388 を他のアミノ酸で置換した GLUT1 輸送体はまったくグルコース輸送活性がなく Trp-388 は必須のアミノ酸であることが明らかになった。 Phe-379 は活性は減少するが、他のいくつかのアミノ酸を受け入れる許容性があることが明らかになった。酵母の二つの芳香族アミノ酸の役割、必須なアミノ酸と重要なアミノ酸、とは位置が逆転しているが、この二つの芳香族アミノ酸がグルコースの認識に関わっていることは明らかである。

また、Hxt1、Hxt2の研究から明らかになった膜貫通領域7のアミノ酸 Asn-331 に関しては、1)ヒトの糖輸送体GLUT7(SLC2A7)で Asn-331 の α ヘリックスの1回り上の部分にあたる Ile-293 が GLUT7 のフルクトース輸送に必須である¹⁹⁾、2)ヒトのグルコース輸送体GLUT1、GLUT2(SLC2A2)の比較から、Asn-331 の α ヘリックスの2回り下の部分にあたる QLS モチーフがグルコースとフルクトースの違いに関与している²⁰⁾等の報告があり、動物の輸送体においてもこの領域が重要な役割を果たしていることがわかる.

5. あとがき

酵母の糖輸送体の同定の研究は、1988年の Carlson らに よるショ糖発酵に関与する遺伝子 SNF 3 (sucrose nonfermenting)が高親和性の糖輸送に必須である遺伝子とし て同定されたことから始まった²¹⁾. SNF 3 がコードするタ ンパク質 (Snf3) は、哺乳類の糖輸送体と配列がよく似て おり、相同な糖輸送体の広がりを示す端緒となった. しか し、後にSnf3はJohnstonらによって、グルコースセン サーで、輸送体ではないことが示された220.このように、 糖輸送と糖代謝は、密接に結びついており、酵母のおかれ た状況に応じ、適切な代謝応答を行っている. 酵母の多く の糖輸送体が外界や細胞内の状況を敏感に検知して, 各輸 送体の発現を制御すると共に、それ以後の糖の代謝や他の 代謝経路の複雑な調節を行っている(Johnston らの総説²³⁾ を参照). これらの転写制御機構の研究は古典遺伝学の時 代から長い歴史を持っているが、複雑で現在でも明確に なっているわけではない.

一方,哺乳類のような多細胞生物では、器官、組織で異なった糖輸送体が発現している。同じ場所でも、発生の時期、ホルモン応答、がん化などにより、時間的にも変化する。なかでも、インスリン投与による糖輸送活性の上昇については、小胞輸送による糖輸送体の細胞内から細胞膜への移動のメカニズムが中心的課題として精力的に研究されたが、その細胞内情報伝達機構は複雑で、いまだ明確になったとはいえない²⁴.

構造生物学の有力な助けを受けての輸送のメカニズムの研究と共に、糖輸送体の糖代謝での役割を明らかにすることは同様に重要な課題である.酵母はその両面において重要な実験系を提供しており、今後の進展が期待される.

本研究の成果は西澤和久教授(帝京大学医療技術学部), 下田恵理子氏,前田眞理氏と共に得たものです。また,共同研究者として石黒正路教授(新潟薬科大学応用生命科学部,サントリー生物有機科学研究所)のご協力を得ました。お礼申し上げます。

文 献

- 1) Saier, M.H., Jr., Tran C.V., & Barabote, R.D. (2006) Nucleic Acids Res., 34 (Database issue) D181–186.
- Abramson, J., Smirnova, I., Kasho, V., Verner, G., Kaback, H. R., & Iwata, S. (2003) Science, 301, 610–615.
- 3) Huang, Y., Lemieux, M.J., Song, J., Auer, M., & Wang, D.N. (2003) *Science*, 301, 616–620.
- Yin, Y., He, X., Szewczyk, P., Nguyen, T., & Chang, G. (2006) Science, 312, 741–744.
- Hirai, T., Heymann, J.A., Maloney, P.C., & Subramaniam, S. (2003) J. Bacteriol., 185, 1712–1718.
- 6) Kruckeberg, A.L. (1996) Arch. Microbiol., 166, 283-292.
- Boles, E. & Hollenberg, C.P. (1997) FEMS Microbiol. Rev., 21, 85–111.
- Nelissen, B., Wachter R.D., & Goffeau, A. (1997) FEMS Microbiol. Rev., 21, 113–134.
- 9) Wieczorke, R., Krampe, S., Weierstall, T., Friedel, K., Hollenberg, C.P., & Boles, E. (1999) FEBS Lett., 464, 123–128.
- 10) Diderich, J.A., Schepper, M., van Hoek, P., Luttik, M.A.H., van Dijkens, J.P., Pronk, J.T., Klaassen, P., Boelens, H.F.M., de Mattos, M.J.T., van Dam, K., & Kruckeberg, A.L. (1999) J. Biol. Chem., 274, 15350–15359.
- Reifenberger, E., Boles, E., & Ciriacy, M. (1997) Eur. J. Biochem., 245, 324–333.
- Nishizawa, K., Shimoda, E., & Kasahara, M. (1995) J. Biol. Chem., 270, 2423–2426.
- 13) Kasahara, M., Shimoda, E., & Maeda, M. (1996) FEBS Lett., 389, 174–178.
- 14) Kasahara, M., Shimoda, E., & Maeda, M. (1997) J. Biol. Chem., 272, 16721–16724.
- Kasahara, T. & Kasahara, M. (2003) Biochem. J., 372, 247– 252.
- Kasahara, T., Ishiguro, M., & Kasahara, M. (2004) J. Biol. Chem., 279, 30274–30278.
- 17) Kasahara, T., Ishiguro, M., & Kasahara, M. (2006) J. Biol. Chem., 281, 18532–18538.
- Kasahara, T. & Kasahara, M. (1998) J. Biol. Chem., 273, 29113–29117.
- Manolescu, A., Salas-Burgos, A.M., Fischbarg, J., & Cheeseman, C.I. (2005) J. Biol. Chem., 280, 42978–42983.
- 20) Seatter, M.J., De la Rue, S.A., Porter, L.M., & Gould, G.W. (1998) *Biochemistry*, 37, 1322–1326.
- Celenza, J., Marshall-Carlson, L., & Carlson, M. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85, 2130–2134.
- 22) Ozcan, S., Dover, J., Rosenwald, A.G., Wolfl, S., & Johnston M. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93, 12428–12432.
- Ozcan, S. & Johnston, M. (1999) Microbiol. Mol. Biol. Rev., 63, 554–569.
- 24) Ishiki, M. & Klip, A. (2005) Endocrinology, 146, 5071–5078.