

出芽酵母アミノ酸輸送蛋白質 GAP1 によるポリアミン輸送  
○植村 武史<sup>1</sup>, 柏木 敬子<sup>1</sup>, 五十嵐 一衛<sup>1</sup> (<sup>1</sup>千葉大院薬)

【目的】ポリアミン (プトレスシン、スペルミジン、スペルミン) は、生物に普遍的に存在する生理活性アミンであり、細胞増殖に必須の因子であるが、過剰量では細胞毒性を示す。我々は、酵母 GABA 輸送蛋白質 UGA4 が液胞膜に存在し、プトレスシンを輸送することを明らかにした。出芽酵母では、GABA は UGA4 の他、GAP1、PUT4 により細胞内に取り込まれる。我々は、これらの輸送蛋白質によるポリアミン輸送活性を検討した結果、GAP1 がプトレスシン及びスペルミジンを輸送することを明らかにしたので報告する。

【結果・考察】GAP1 遺伝子過剰発現株では、野生株に比べてプトレスシン及びスペルミジンの取り込みが増加した。プトレスシン、スペルミジンの  $K_m$  値はそれぞれ 391  $\mu\text{M}$ 、20.5  $\mu\text{M}$ 、 $V_{max}$  値は 4.61、0.585 nmol/min/mg protein であった。取り込み活性の大きいプトレスシンによる細胞増殖阻害効果を検討した結果、GAP1 過剰発現株は 60 mM プトレスシン存在下で細胞増殖阻害を起こした。この時、野生株の約 2 倍量のプトレスシンが細胞内に蓄積していた。これらの結果より、GAP1 はプトレスシン、スペルミジンを細胞内に輸送することが明らかとなった。

次に、GAP1 の細胞内局在を検討した。GAP1 によるプトレスシンの輸送は、呼吸鎖阻害剤アジ化ナトリウムによって阻害されたが、液胞型  $\text{H}^+$ -ATPase 阻害剤 bafilomycin A<sub>1</sub> には阻害されなかった。また、GAP1 を EGFP 融合蛋白質として発現させ、蛍光顕微鏡により細胞を観察した結果、細胞膜に強い蛍光が観察された。以上の結果より、GAP1 が細胞膜に局在することが明らかとなった。

【結論】本研究により、真核細胞における細胞膜上のポリアミン輸送蛋白質が初めて明らかになった。