一般 6

Na⁺依存性モノカルボン酸トランスポーター SMCT2の結合タンパク質の解明

鬼塚 信之^{1,2)} 大塚 祐介¹⁾ 森田亜州華¹⁾
大谷 直由¹⁾ 大内 基司¹⁾ 安西 尚彦¹⁾

目 的

Na⁺依存性モノカルボン酸トランスポーター (SMCT) 2は腎尿細管および腸管の管腔側膜に依存するトランスポーターで、腎尿細管ではSMCT1と共にNa⁺依存性に乳酸などのモノカルボン酸の再吸収を担っている。しかし、その機能制御機序に関しては未だに明らかになっていない。同部位に発現するトランスポーターの多くはその細胞内C末端にPDZモチーフと呼ばれるタンパク質間相互作用に寄与するアミノ酸配列があり、我々は過去に血中尿酸値の決定に関与する尿酸トランスポーター (URAT1) がPDZタンパク質の一つであるPDZK1と結合し、その尿酸輸送活性が増加することを報告している。SMCT2の細胞内C末端にもPDZモチーフが存在するため、結合するPDZタンパク質による機能制御を受ける可能性がある。

方 法

SMCT2の細胞内C末端に存在するPDZモチーフと結合するPDZタンパク質を検索するため、同部位をベイトとして用い、ヒト腎臓cDNAライブラリーに対して酵母Two-hybrid法を行った。酵母Two-hybrid法の結果を受け、GSTプルダウンアッセイ、免疫沈降法にてSMCT2とPDZタンパク質の相互作用を検討した。SMCT2のモノカルボン酸輸送に与えるPDZタンパク質の影響を検討するためにHEK293細胞にSMCT2、とPDZK1あるいはHarmoninを共発現させRI標識したニコ

チン酸の輸送活性を測定した。

結 果

SMCT2細胞内C末端をベイトとしヒト腎臓cDNAライブラリーに対して酵母Two-hybrid法を行い、PDZK1 (34陽性クローン中8回)、Harmonin (34陽性クローン中1回) を結合のパートナーとして同定した。その為、GSTプルダウンアッセイ、免疫沈降法にて両者の結合を確認した後に遺伝子共発現細胞を用いたモノカルボン酸輸送活性の検討を行った。その結果、SMCT2とHarmoninの共発現細胞においてニコチン酸輸送活性が優位に上昇した。

結 論

SMCT2の細胞内C末端に存在するPDZモチーフに対する結合タンパク質としてPDZK1、Harmoninを同定した。

1) 獨協医科大学医学部薬理学講座

2) 埼玉医科大学総合医療センター 腎・高血圧内科

Nobuyuki Onizawa, Yusuke Otsuka, Asuka Morita,
Naoyuki Otani, Motoshi Ouchi, Naohiko Anzai
Nobuyuki Onizawa