

## 液胞／リソソームアミノ酸トランスポーターによる 細胞内アミノ酸ホメオスタシス

関藤 孝之<sup>1,2</sup>，河田（河野） 美幸<sup>1,2,3</sup>

サイトゾル中アミノ酸濃度の調節は，細胞の生存・生育に直結する重要なプロセスである。その機構の一つとして，液胞／リソソーム内外へのアミノ酸輸送があげられる。そこで機能するアミノ酸トランスポーターは，近年同定が進み，出芽酵母ではトランスポーター間の機能重複が明らかとなっている。また動物リソソームアミノ酸トランスポーターがmTORC1を調節するトランスセプターとして，細胞内アミノ酸ホメオスタシスの重要なプレイヤーであることが示された。本稿では，これまでの液胞／リソソームアミノ酸トランスポーター研究の総括とともに，これらの調節機構と生理機能について最新の知見を紹介する。

### 1. はじめに

植物および真核微生物の細胞内には一重膜細胞小器官（オルガネラ）である液胞が発達する。また，動物細胞には液胞に相当するリソソームが存在する。両者の共通点は生体高分子の分解を担う点であり，その内腔は液胞／リソソーム膜に局在するV-ATPaseによって酸性に維持され，酸性側に至適pHを持つ多種多様な分解酵素が働いている。液胞とリソソームの相違点はその大きさであり，植物液胞

が40 $\mu$ m径程度，また出芽酵母の液胞が約3 $\mu$ m径であるのに対し，動物リソソームはわずか0.05～0.5 $\mu$ m径である。その大きさを反映し，液胞は栄養や多様な二次代謝産物を貯蔵し，毒物が侵入すればこれを隔離・解毒する。また水分や塩分の出し入れにより浸透圧調節を行う他，植物では膨圧によって個体を支える役割も担っている。こうした液胞／リソソームの機能発現には液胞／リソソーム膜を介した内外への物質輸送が不可欠である。そこには多様なトランスポータータンパク質が機能しているはずである。

細胞内のアミノ酸濃度はタンパク質合成の律速段階となっており，TORC1などの栄養シグナル伝達系により適正に維持され，細胞の生育速度を決定づけている。細胞内のアミノ酸ホメオスタシスは，アミノ酸の合成や分解，細胞内への取り込み，タンパク質の合成や分解といった多様な代謝プロセスが統合的に調節されることにより達成される。これまで，これら各プロセスの機構解明がアミノ酸ホメオスタシスの全体像理解に大きく貢献してきた。しかし，細胞内アミノ酸分布の重要性については依然十分な検討は行われていない。液胞／リソソームではオートファジー等のタンパク質分解によって多量のアミノ酸が生成される。また植物や真核微生物の液胞はアミノ酸貯蔵プールとして古くから知られている。

近年，オートファジー研究の進展により，液胞／リソソームからサイトゾルへのアミノ酸リサイクルが細胞分化および飢餓条件での生存等に果たす役割がクローズアップされている。しかし，オートファジーではタンパク質だけ

<sup>1</sup>愛媛大学大学院農学研究科生命機能学専攻（〒790-8566 松山市樽味3-5-7）

<sup>2</sup>愛媛大学プロテオサイエンスセンター（PROS）（〒790-8566 松山市樽味3-5-7）

<sup>3</sup>愛媛大学学術支援センター（ADRES）（〒790-8566 松山市樽味3-5-7）

#### Cellular amino acid homeostasis by vacuolar/lysosomal amino acid transporters

Takayuki Sekito<sup>1,2</sup> and Miyuki Kawano-Kawada<sup>1,2,3</sup> (<sup>1</sup>Department of Bioscience, Graduate School of Agriculture, Ehime University, 3-5-7 Tarumi, Matsuyama, Ehime 790-8566, Japan, <sup>2</sup>Proteo-Science Center (PROS), Ehime University, 3-5-7 Tarumi, Matsuyama, Ehime 790-8566, Japan, <sup>3</sup>Advanced Research Support Center (ADRES), Ehime University, 3-5-7 Tarumi, Matsuyama, Ehime 790-8566, Japan)

本論文の図版はモノクロ（冊子版）およびカラー（電子版）で掲載。

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2023.950747

© 2023 公益社団法人日本生化学会

でなく多様なオルガネラも分解されることから、リサイクルされるのはアミノ酸だけではなく、核酸、金属、脂質、糖など多岐にわたると考えられる<sup>1)</sup>。さらに、オートファジーは損傷したオルガネラやタンパク質を除去する細胞内浄化作用も担う。したがって、液胞/リソソームからのアミノ酸リサイクルの生理的意義を正しく理解するには、オートファジー欠損株の解析ではなく、サイトゾルへのアミノ酸排出のみを特異的に遮断し、その影響を評価する必要がある。その一方で、栄養豊富条件で液胞内に蓄積したアミノ酸は、栄養の備蓄と捉えられてきたが、その実験的な検証では、液胞内へのアミノ酸取り込みを特異的に遮断し、飢餓条件等での生育・生存への影響を検討することになる。いずれも、液胞/リソソーム内外へアミノ酸を輸送するトランスポーターを欠損させることになるが、これらトランスポーターの同定が動物および出芽酵母において、近年徐々に進められている。加えて、動物リソソームアミノ酸トランスポーターには細胞内の栄養状態を感知する受容体機能も提唱されている。この受容体機能の詳細については原著論文・関連総説を参照いただきたい。本稿では現時点で明らかとなっている液胞/リソソームアミノ酸トランスポーターの概要を示した上でその調節、生理的役割を解説し、現状の課題と将来の展望を述べる。

## 2. 動物リソソームアミノ酸トランスポーター

シナプス小胞膜にはリソソーム膜と同じくV-ATPaseが存在し、小胞内外でのプロトン濃度勾配はGABAやグルタミン酸といった神経伝達物質の集積に利用される。SLC32ファミリーに属するVGATはシナプス小胞にGABAおよびGlyを取り込むトランスポーターとして報告された<sup>2,3)</sup>。SLC32ファミリーはSLC36ファミリーおよびSLC38ファミリーと同じくAAAP (amino acid/auxin permease) superfamilyにまとめられている。SLC36ファミリーのLYAAT-1/PAT1はリソソーム膜に局在し、プロトン濃度勾配に依存してPro, Ala, Glyといった中性アミノ酸をリソソーム外へと排出する<sup>4)</sup>。また、近年、SLC38A9がリソソーム膜に局在しGln, Arg, Leuを輸送することが報告された<sup>5,6)</sup>。リポソームへと再構成したSLC38A9のGln輸送の $V_{max}$ は低く ( $8.8 \pm 0.57 \text{ nmol/mg prot/min}$ )、 $K_m$ も  $518 \pm 58 \mu\text{mol}$ と高い<sup>7)</sup>。さらに、Argに対する親和性も比較的低い ( $K_m = 2.7 \pm 0.83 \text{ mM}$ )。Argが結合した立体構造が報告されているが<sup>8)</sup>、細胞内ではアミノ酸輸送よりむしろ、後述のようにリソソーム内のアミノ酸を感知しmTORC1と直接相互作用して活性化する受容体機能も兼ねたトランスポーターであることが示唆されている<sup>7)</sup>。

シスチノーシスはシスチンをリソソーム外へと排出するシスチノシンの変異によりシスチンが異常蓄積し、リソソーム機能が障害されることによって発症するリソソーム病の一種である。最近報告されたシスチノシンの立体構造は7回膜貫通型であり、プロトンとの共輸送によるシスチ

ンの排出機構、およびmTORC1との相互作用に関わる領域も示された<sup>9,10)</sup>。シスチノシンが属するLCT (lysosomal cystine transporter) ファミリーにはリソソーム膜に局在するPQLC2 (SLC66A1) も含まれる。リソソーム膜局在に必要なとされるジロイシンモチーフをアラニン置換したPQLC2はカエル卵母細胞に発現させると細胞膜に局在し、細胞外pHが5.0の条件下で細胞の塩基性アミノ酸 (Lys, His, Arg) 取り込みが増加した一方で、pH 7.0では増加しなかったことから、 $\Delta\text{pH}$ に依存して塩基性アミノ酸を輸送することが示唆された<sup>11)</sup>。このPQLC2のArg輸送については $K_m$ が  $3.36 \pm 0.26 \text{ mM}$ 、 $V_{max} = 112 \pm 28 \text{ pmol/min/細胞}$ とさほど高い輸送活性ではない。リソソーム内pHが酸性であることを考えるとPQLC2は*in vivo*で塩基性アミノ酸をリソソームから排出すると考えられる。シスチノーシスの治療ではシステアミンを投与してシステアミン/Cys混合ジスルフィド (MxD) をリソソーム内で生成させ、これをリソソームから排出させることでリソソーム内シスチン濃度を低減させる。このMxDはLysに構造が似ており、その排出にPQLC2が働くことが示された<sup>11)</sup>。

SLC15A4はHisおよびペプチドをリソソーム外へと排出することが報告されている<sup>12)</sup>。TLR7とTLR9はエンドソームとリソソームにおいてそれぞれウイルス・細菌のもつ核酸を認識するToll様受容体であり、I型インターフェロンなどの炎症性サイトカインの産生を促進するが、SLC15A4を欠損するとこれら炎症反応が阻害される。これにはリソソーム内でのHisの異常蓄積によるリソソーム内pH環境の変化およびV-ATPaseとmTORC1活性の変化が関わると思われている<sup>13)</sup>。シスチノーシスの発症例とも合わせ、リソソームからのアミノ酸排出はリソソーム内環境の適正化にも重要であることがわかる。

## 3. 出芽酵母の液胞アミノ酸トランスポーター

### 1) AVTファミリートランスポーター

出芽酵母の液胞内アミノ酸プールの研究は古くから行われ、1970年代には塩基性アミノ酸が細胞全体の70~90%と高度に蓄積し、逆に酸性アミノ酸 (Glu, Asp) は10%以下とアミノ酸種によって異なる細胞内分布が示されていた。出芽酵母ではこれまで遺伝子の破壊もしくは過剰発現による液胞内アミノ酸含量もしくは単離液胞膜小胞のアミノ酸輸送活性の変化を調べることで液胞アミノ酸トランスポーターが多数同定されている (表1)。液胞内アミノ酸は細胞を低濃度の銅イオンで処理し、細胞膜のみを選択的に破壊することによって抽出する<sup>14)</sup>。また、液胞膜小胞はフィコール溶液を用いたフローテーションによって単離した液胞を破碎し超遠心後の沈殿画分として調製する<sup>15)</sup>。VGATを同定したMcIntireのグループは、VGATのホモログであるAvt1~7の7種からなる出芽酵母AAAP (AVTファミリー) の解析も行った<sup>16)</sup>。その結果、野生株とAVT1破壊株より単離した液胞膜小胞への放射標識アミ

ノ酸の取り込みを比較することにより, Avt1がATP依存的にGln, Tyr, Ileを取り込むことが示された. また, AVT3とAVT4を破壊するとGln, Tyr, IleのATP依存的な小胞への取り込みが逆に増加することから, Avt3とAvt4はこれらアミノ酸を液胞外へと排出することが示唆された. さらに液胞膜小胞に前負荷した酸性アミノ酸のATP依存的な排出がAvt6に依存することも見いだした.

筆者らはこれらAvtトランスポーターの*in vivo*での機能を検討するため, 破壊株もしくは過剰発現株の液胞内アミノ酸の定量を始めた<sup>17)</sup>. その結果, 液胞膜小胞の結果と一致してAvt3とAvt4の二重破壊(*avt3Δavt4Δ*)株では液胞内のGln, Tyr, Ile含量が大幅に増加したのに加え, 中性アミノ酸全般の液胞内含量の増加を検出した(図1A). これと一致して, Avt3もしくはAvt4を過剰発現すると, Ala, Val, Proを前負荷した単離液胞膜小胞からの各アミノ酸のATP依存的な排出が検出されたことから(図1C), Avt3とAvt4は*in vivo*において中性アミノ酸全般を液胞外へ排出することが示唆された. また, オートファジーによって液胞内にアミノ酸が産生する窒素飢餓条件においても*avt3Δavt4Δ*株では中性アミノ酸全般の液胞内含量は高いまま維持されたことから, オートファジーアミノ酸リサイクルに機能することも示唆された(図1B). さらに, 予想外なことに, 窒素飢餓条件ではAVT4単一破壊株の液胞内塩基性アミノ酸含量が野生株よりも高いまま維持されてい

た(図1B). またAVT4を過剰発現すると栄養豊富条件にもかかわらず, 液胞内の中性アミノ酸だけでなく塩基性アミノ酸も減少し, 単離液胞膜小胞のアルギニン取り込み活性も減少したことから, Avt4は塩基性アミノ酸も液胞外へ排出することが示された<sup>17)</sup>. このように出芽酵母では液胞内アミノ酸の定量を組み合わせることにより, 液胞アミノ酸トランスポーターの新規輸送基質が明らかとなっている. それまではArg, Lys, His, Phe, Trp, Gln, Asn, Tyr, Leu, Ileの10種のアミノ酸が液胞膜小胞内へATP依存的に取り込まれることが示されていたが<sup>18)</sup>, *avt3Δavt4Δ*株由来の液胞膜小胞では排出活性が低下したため, AlaやValをはじめ, その他多くの中性アミノ酸のATP依存的な取り込みが検出された<sup>17)</sup>. このことは液胞膜小胞を介したアミノ酸輸送の向きが取り込みと排出のバランスによって決定されることを示している. 筆者らは*avt3Δavt4Δ*株を使って, 中性アミノ酸全般の液胞膜小胞へのATP依存的な取り込みがAVT1破壊によって減少することを見いだした<sup>19)</sup>. 液胞内の中性アミノ酸含量はAVT1単一破壊ではほとんど変化しなかったが, ここでも*avt3Δavt4Δ*株でAVT1を破壊すると中性アミノ酸全般の液胞内含量が低下したことから, *in vitro*と*in vivo*の結果が一致し, AVT1破壊による液胞内への取り込みの減少が, 液胞外への排出活性の変化によって相補されることが示唆された<sup>19)</sup>. 筆者らは液胞膜小胞へのATP依存的なヒスチジン取り込みがAvt1に依存するこ

表1 酵母液胞アミノ酸トランスポーター

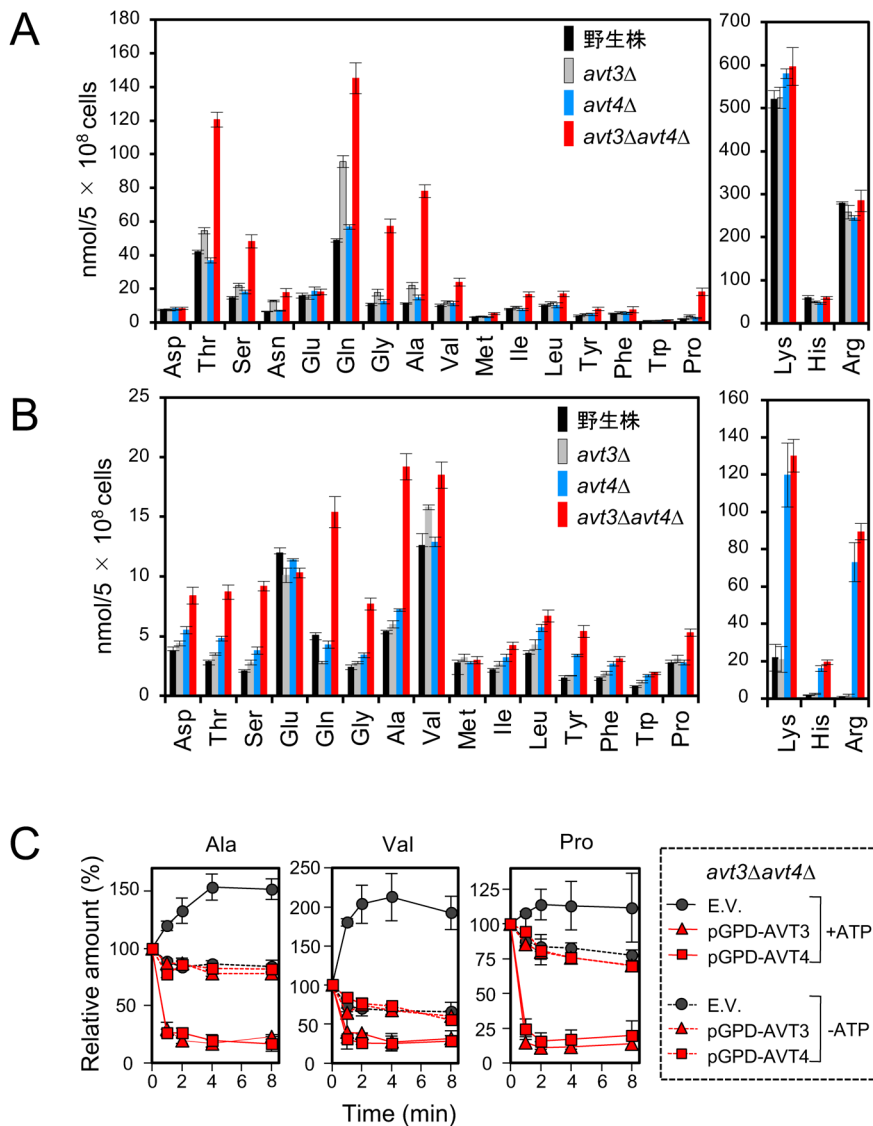
スーパーファミリー	ファミリー	トランスポーター	輸送基質	輸送の向き ( <i>in vivo</i> ) <sup>*1</sup>	輸送の向き ( <i>in vitro</i> ) <sup>*2</sup>
AAAP	AVT	Avt1	中性アミノ酸・His	in <sup>*3</sup>	in (V:プロトン濃度勾配)
		Avt3	中性アミノ酸	out	out (V:プロトン濃度勾配)
		Avt4	中性・塩基性アミノ酸	out	out (V:プロトン濃度勾配)
		Avt6	酸性アミノ酸	out	out (V:プロトン濃度勾配)
		Avt7	中性アミノ酸	out	out (V:プロトン濃度勾配?)
TOG	LCT	Ypq1	Lys・Arg	ND	in (V:プロトン濃度勾配, L:ΔpH)
		Ypq2	Arg	out	in (V:プロトン濃度勾配, Hisとの交換輸送) out (V:ユニポーター)
		Ypq3	His	ND	in (V:プロトン濃度勾配)
		Ers1	シスチン	ND	ND <sup>*4</sup>
	SulP	Vsb1	塩基性アミノ酸	in	in (V:プロトン濃度勾配)
MFS	VBA	Vba1	Lys・His	ND	in (V:プロトン濃度勾配?)
		Vba2	塩基性アミノ酸	ND	in (V:プロトン濃度勾配?)
		Vba3	Lys・His	ND	in (V:プロトン濃度勾配?)
		Atg22	Tyr・Leu	out	ND
APC		Uga4	GABA	in	ND

<sup>\*1</sup>液胞内アミノ酸含量から予想される輸送の向き. in:液胞内への取り込み, out:液胞外への排出, ND:未検討.

<sup>\*2</sup>液胞膜小胞(V)もしくはプロテオリポソーム(L)を用いた実験から予想される*in vivo*での輸送の向き. 括弧内はアッセイ系と駆動力. in:液胞内への取り込み, out:液胞外への排出, ND:未検討.

<sup>\*3</sup>液胞内ヒスチジン量の変化は未検出.

<sup>\*4</sup>細胞膜に局在化させ, 細胞内への取り込みが検出されている.

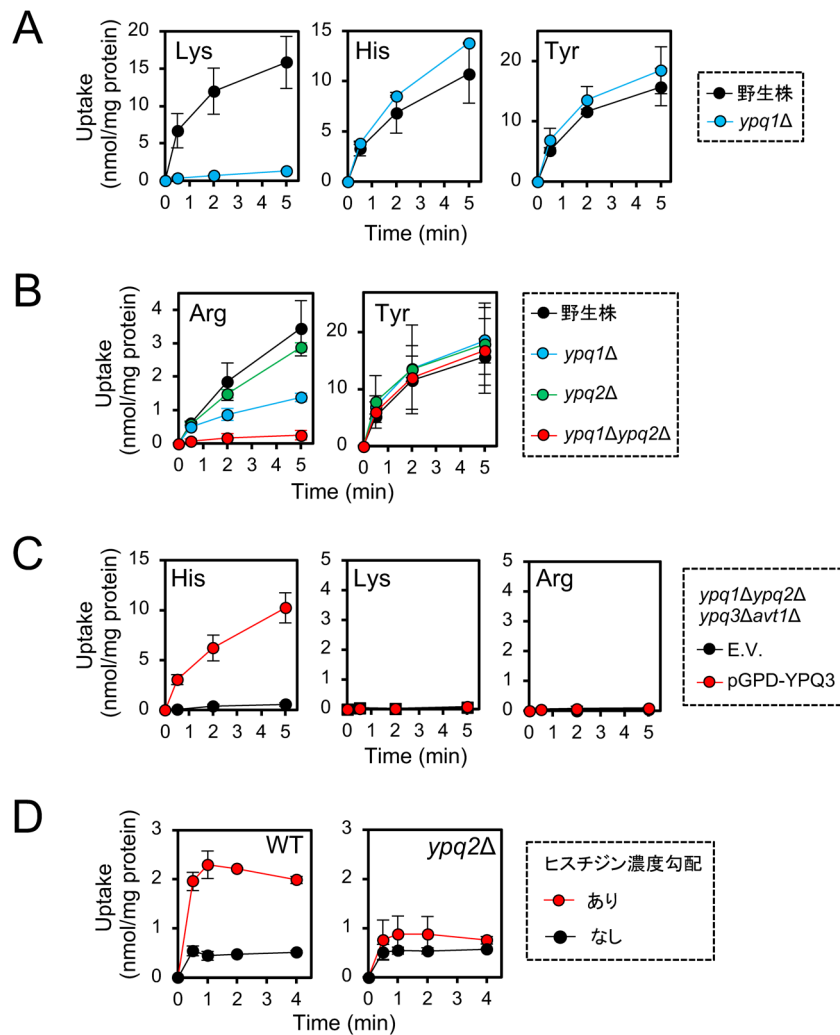


**図1** Avt3およびAvt4による液胞膜を介したアミノ酸輸送  
 栄養豊富条件(A)もしくは窒素飢餓条件(B)で培養した野生株, *avt3Δ*株, *avt4Δ*株, *avt3Δavt4Δ*株より, 銅処理によって抽出した液胞内アミノ酸をアミノ酸自動分析計により定量した. 塩基性アミノ酸含量は右側の別グラフに示す. (C)空ベクター (E.V.), *AVT3* 過剰発現ベクター (pGPD-AVT3), *AVT4* 過剰発現ベクター (pGPD-AVT4)を導入した*avt3Δavt4Δ*株を栄養豊富条件で培養し, 単離した液胞膜小胞に図示した<sup>14</sup>C標識アミノ酸を前負荷した. ATP添加後(実線)もしくは未添加(点線)での小胞内アミノ酸量を測定した. 0分の時点での小胞内アミノ酸量を100%とし相対値をプロットした. 図は文献17より転載.

とも見いだしたが, 液胞内の*avt3Δavt4Δ*株で*AVT1*を破壊してもヒスチジン含量は減少しなかった. このように液胞アミノ酸トランスポーターについては, 遺伝子破壊による*in vitro*でのアミノ酸輸送活性の変化が液胞内のアミノ酸含量に反映されないケースも多数ある. これは液胞膜小胞単離過程でのトランスポーターの分解および調節因子の分解・解離や, アミノ酸輸送活性測定時のpH等の小胞内外の条件が*in vivo*と異なるなど複数の要因が考えられ, 液胞/リソソームアミノ酸トランスポーターの研究を進める上での課題となっている.

Avt6は酸性アミノ酸を液胞外へと排出することが単離液胞膜小胞を使った実験で示唆されたが<sup>16)</sup>, *in vivo*での機能は未検討であった. 筆者らは, *AVT6*破壊株を窒素飢餓

条件に移すと液胞内酸性アミノ酸量が野生株より高くなることを見いだした<sup>20)</sup>. このことはAvt6が窒素飢餓条件下で酸性アミノ酸の液胞外への排出に機能することを示唆している. 一方, Avt7は液胞膜に局在し, *avt3Δavt4Δ*株で欠損すると, GlnとProの液胞内含量が増加することがわかった. 液胞膜小胞のATP依存的なGln・Pro取り込みも*AVT7*の過剰発現により減少したことから, Avt7はこれらアミノ酸を液胞外へ排出する新規液胞アミノ酸トランスポーターであることが示唆された<sup>21)</sup>. AVTファミリーにはAvt2とAvt5も含まれるが, これらの液胞アミノ酸輸送への関与は未知である.

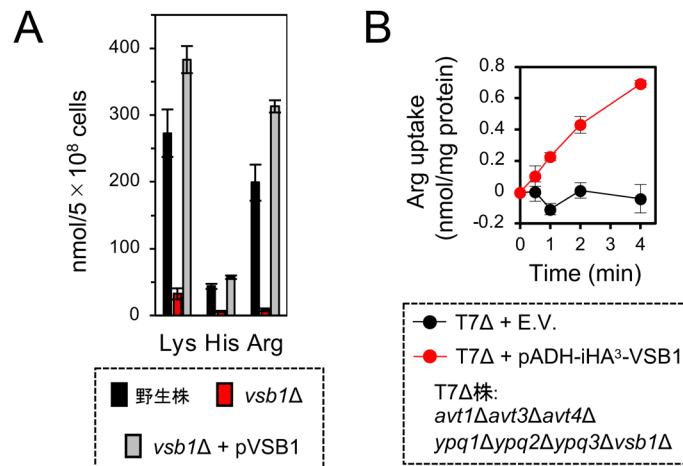


**図2** Ypq タンパク質による液胞膜を介したアミノ酸輸送  
 (A)野生株と *ypq1Δ*株より単離した液胞膜小胞のATP 依存的な塩基性アミノ酸の取り込み. 図は文献24より改変引用.  
 (B)野生株, *ypq1Δ*株, *ypq2Δ*株, *ypq1Δypq2Δ*株より単離した液胞膜小胞のATP 依存的な Arg および Tyr の取り込み.  
 (C)空ベクター (E.V.) もしくは *YPQ3* 過剰発現ベクター (pGPD-YPQ3) を導入した *ypq1Δypq2Δypq3Δavt1Δ* 株より単離した液胞膜小胞のATP 依存的な塩基性アミノ酸の取り込み. 図は文献25より改変引用.  
 (D)野生株もしくは *ypq2Δ*株より液胞を単離し, 10mM His 存在下で液胞膜小胞を調製した.  $^{14}\text{C}$  標識 Arg を含むバッファーで50倍希釈し小胞内外で His 濃度勾配を形成させ, Arg の取り込みを測定した. コントロールとして10mM ヒスチジンを含むバッファーで50倍希釈し同様に Arg の取り込みを測定した.

## 2) LCTファミリートランスポーター

LCTファミリーは出芽酵母では Ypq1, Ypq2, Ypq3, Ers1, Any1, Ilt1 の6種がコードされている. このうちシスチノシンホモログである Ers1 は液胞膜に局在するが, 過剰発現すると細胞膜にも局在し, シスチンを細胞内に取り込む<sup>22)</sup>. また *ERS1* 破壊株はハイグロマイシンBに感受性となるがシスチノシンの異種発現によって相補されることから, Ers1 はシスチノシンホモログとして酵母液胞においてシスチンの輸送に機能することが示唆された<sup>22)</sup>. 一方, Ypq2 は欠損により Arg の毒性アナログであるカナバニンに耐性となり, 窒素飢餓条件下での液胞内 Arg 含量が野生株より高いまま維持されることから, *in vivo* では Arg を液胞外へ排出することが示唆されている<sup>11, 23)</sup>. これと一致して, 液胞膜小胞に前負荷された放射標識 Arg が ATP 非存在下においても Ypq2 依存的に小胞外へと排出されたことか

ら, Ypq2 はユニポーターであることが示唆された<sup>23)</sup>. しかし, 筆者らは Ypq1, Ypq2, Ypq3 が単離液胞膜小胞への ATP 依存的な Lys/Arg, Arg, His の取り込みにそれぞれ関与することを見だし (図2A-C)<sup>24-26)</sup>, さらに Ypq2 は以前報告された液胞膜小胞の His/Arg 交換輸送活性の本体であることも報告した (図2D)<sup>26, 27)</sup>. 液胞膜小胞には多くのトランスポーターが存在するため, こうした多様な輸送活性の中には間接的に他のトランスポーターの輸送活性を反映したものが含まれている可能性がある. よって, トランスポーターとしての活性を正確に理解するためには, リポソーム再構成系やカエル卵母細胞を用いた解析が必要である. 最近, Ypq1 のリポソームへの再構成が報告され,  $\Delta\text{pH}$  ( $\text{pH}_{\text{in}} < \text{pH}_{\text{out}}$ ) 依存的にリポソーム内に塩基性アミノ酸を取り込むことが示された<sup>28)</sup>. この結果は筆者らの液胞膜小胞を用いた結果と一致している. こうした精製ト



**図3** *VSB1* 発現による液胞内塩基性アミノ酸含量と液胞膜小胞への Arg 取り込みの変化 (A) 栄養豊富条件で培養した野生株, *vsb1Δ* 株, *VSB1* 発現ベクター (pVSB1) を導入した *vsb1Δ* 株の液胞内塩基性アミノ酸含量を測定した. (B) 液胞アミノ酸トランスポーター七重破壊株 (T7Δ: *avt1Δavt3Δavt4Δypq1Δypq2Δypq3Δvsb1Δ*) に空ベクター (E.V.) もしくは HA<sup>3</sup> タグ挿入 *Vsb1* 過剰発現ベクター (pADH-iHA<sup>3</sup>-VSB1) を導入し, 単離した液胞膜小胞の ATP 依存的な Arg 取り込みを測定した. 図は文献31より転載.

ランスポートの再構成系で検出される活性と *in vivo* での液胞内含量への影響の間での整合性の検討が待たれる. 他の LCT ファミリーメンバーである Any1 はエンドソーム/TGN に局在しリン脂質のフリッパーゼおよびスクランブラーゼとして機能することが示唆され<sup>29,30</sup>, Ilt1 は細胞膜に局在し, 薬剤耐性への関与が報告されているが現段階では機能未知である.

### 3) *Vsb1*

前述のように Ypq タンパク質に依存した塩基性アミノ酸の ATP 依存的な液胞膜小胞への取り込みが検出されたが, Ypq1~3 すべてを欠損しても液胞内に塩基性アミノ酸が依然蓄積することから, *in vivo* では塩基性アミノ酸取り込みを担う主要なトランスポーターが別に存在することが示唆されていた. 近年, この塩基性アミノ酸蓄積に関わる主要因子として *Vsb1* が同定された. *Vsb1* は SulP トランスポーターファミリーに属し, 欠損すると液胞内の塩基性アミノ酸量が大幅に減少する (図3A)<sup>23,31</sup>. 筆者らはさらに *AVT* と *YPQ* の多重破壊株に *VSB1* を過剰発現させ, 単離した液胞膜小胞の ATP 依存的な Arg 取り込み活性の増加を検出した (図3B)<sup>31</sup>. また, 推定膜貫通領域内の保存 Asp 残基 (D223) を Ala に置換した変異型 *Vsb1* は *vsb1Δ* 株に発現させると, 液胞膜に局在するにもかかわらず, 塩基性アミノ酸を蓄積しないことから, *Vsb1* は *in vivo* で塩基性アミノ酸トランスポーターとして機能することが示唆された<sup>31</sup>. しかし, 輸送活性の検討は液胞膜小胞を使った実験にとどまっており, *Vsb1* が他のトランスポーターに間接的に作用する可能性は否定できない.

### 4) その他の液胞アミノ酸トランスポーター

出芽酵母の major facilitator superfamily (MFS) に属する *Vba1*, *Vba2*, *Vba3* は液胞膜小胞に塩基アミノ酸を取り込む

ことが示されたが<sup>32</sup>, 前述のように, 液胞内への塩基性アミノ酸蓄積は *Vsb1* 欠損によってほぼ失われることから *in vivo* では塩基性アミノ酸取り込みには機能しない可能性が高い. また, 薬剤耐性にも関与することから *in vivo* での輸送基質はアミノ酸以外の物質であることも示唆されている. 同じく MFS に属する *Atg22* は欠損による液胞内の分岐鎖アミノ酸や Tyr の含量増加が報告されている<sup>33</sup>. 興味深いことに, *Atg22* 欠損株では窒素飢餓条件で液胞内プロテアーゼの合成が低下し, 液胞内でのオートファジックボディの分解が抑制されることも示されている<sup>33,34</sup>.

多数の細胞膜アミノ酸トランスポーターを含む amino-acid-polyamine-organocation (APC) superfamily の中で *Uga4* は液胞膜に局在することが示されている. *Uga4* は過剰発現によって増加した細胞内の GABA 含量が V-ATPase 特異的な阻害剤バフィロマイシン A1 処理により抑制されることから, GABA を液胞内へ輸送することが示唆されている<sup>35</sup>. *Atg22* と *Uga4* はいずれもアミノ酸の輸送活性について液胞膜小胞およびプロテオリポソームを用いた直接的な検討は行われていない. トランスポーターとしての機能については今後さらなる検討が必要である.

### 4. 他の真核微生物および植物の液胞アミノ酸トランスポーター

出芽酵母同様, 真核細胞のモデル生物として使用される分裂酵母は「酵母」だが, 系統的には出芽酵母とはまったく異なることから, 分裂酵母の液胞アミノ酸トランスポーターホモログの解析は真核微生物における機能の普遍性を検証することになる. さらに遺伝子数が出芽酵母よりも少ないため, トランスポーター間の機能重複を回避し, 遺伝子破壊による表現型検出も期待できる. その一方で, 液胞の単離法が確立されておらず, 液胞膜を介したアミノ酸輸

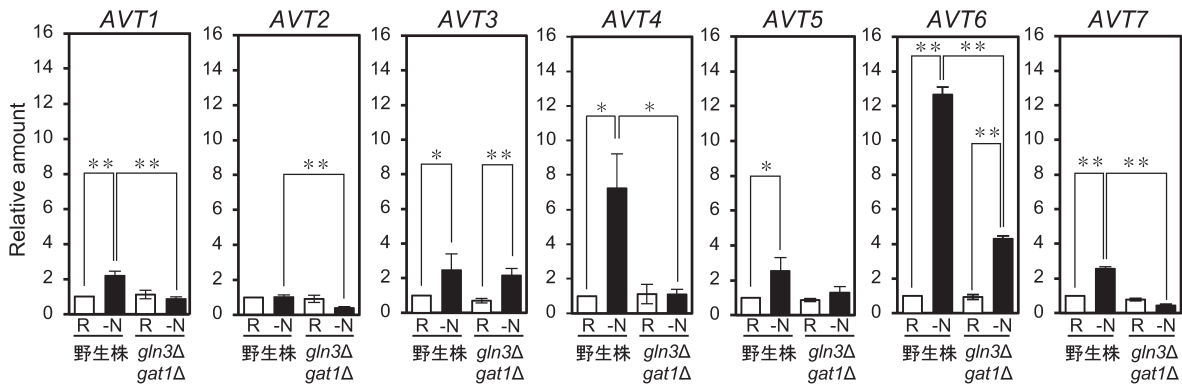


図4 窒素飢餓およびGATA転写因子欠損によるAVTファミリー遺伝子の発現変化

栄養豊富条件(R)もしくは窒素飢餓条件(-N)で培養した野生株およびGATA転写因子欠損株(*gln3Δgat1Δ*)よりRNAを抽出し、アクチンmRNAを内部標準として各AVT遺伝子のmRNAをリアルタイム定量PCRによって解析した。 $**p < 0.01$ ,  $*p < 0.05$ . 図は文献45より改変引用。

送活性を検査することができない。これに対して、液胞内外のプロトン濃度勾配を形成するV-ATPaseの特異的阻害剤(コンカナマイシンAやバフィロマイシンA1)で処理すると、細胞のアミノ酸取り込みが低下することから、液胞膜を介したアミノ酸輸送の変化が細胞へのアミノ酸取り込みに反映されるとして、当初研究が進められた。分裂酵母のAVTトランスポーターは2種のみ(SpAvt3とSpAvt5)と出芽酵母に比べ大幅に少ない。出芽酵母のAvt6と高い相同性を有する分裂酵母ホモログSpAvt5は液胞膜に局在し、欠損すると塩基性アミノ酸、Tyr、Gluの細胞内への取り込みが減少したこと、これらアミノ酸の液胞内取り込みへの関与が示唆された<sup>36)</sup>。一方、VBAホモログは3種コードされ、いずれも液胞膜に局在し、同様の解析によりFnx1とFnx2がLys、Ile、Asn、SpVba2が塩基性アミノ酸全般をそれぞれ液胞内に取り込むことが示唆された<sup>37,38)</sup>。しかし、これら分裂酵母ホモログの*in vivo*での機能について、さらなる検討が必要である。SpVba2については出芽酵母に発現させると液胞膜に局在し、液胞膜小胞のLysとArgの取り込みと液胞内のこれらアミノ酸含量の増加も示された<sup>39)</sup>。その一方でキニジンなど薬剤耐性への関与も示唆されている<sup>39)</sup>。SpAvt3も出芽酵母で発現させ、液胞膜小胞を用いて中性・塩基性アミノ酸の排出活性が検出された<sup>40)</sup>。またYpqタンパク質ホモログであるStm1を発現した出芽酵母から単離した液胞膜小胞ではArg/ArgおよびHis/Arg交換輸送活性とプロトン濃度勾配に依存したArgおよびLysの取り込み活性が検出された<sup>41)</sup>。その一方で分裂酵母*stm1*破壊株は液胞内LysとHisが野生株に比べて減少し、Argは逆に増加した<sup>41)</sup>。複数の輸送様式が*in vitro*で検出される点と、液胞膜小胞で検出される基質輸送の方向が*in vivo*の結果と必ずしも一致しない点は出芽酵母Ypq2と同じであり、こうした矛盾点の解決が課題であると同時に、Ypqタンパク質の機能・性質が真核微生物全般に保存されていることを示唆している。最近、筆者らはVsb1ホモログも分裂酵母液胞の塩基性アミノ酸蓄積に必要であり、保存Asp残基D174がこれに必須であることを報告した<sup>42)</sup>。

植物病原菌であるフザリウム菌、および高等植物であるシロイヌナズナのAvt3ホモログもそのGFP融合タンパク質が液胞膜に局在し、出芽酵母で異種発現させた場合でも液胞膜に局在し、液胞膜小胞のATP依存的な中性・塩基性アミノ酸排出が増加した<sup>43,44)</sup>。しかし、各生物種での液胞内アミノ酸含量への作用は未検討である。

## 5. 液胞/リソソームアミノ酸輸送の調節と生理的役割

液胞/リソソームアミノ酸トランスポーターの活性調節の機構解明は現在でもほぼ手つかずである。そうした中、筆者らは出芽酵母AVTファミリートランスポーターの多くが窒素飢餓条件において転写レベルで誘導され、これにGATA転写因子が直接関与することを報告した(図4)<sup>45)</sup>。GATA転写因子は培地中の唯一の窒素源が資化しにくい場合(Proなど)、核へと移行しこれを資化するための遺伝子群の転写を誘導する。一方、資化しやすい窒素源(Glnなど)を加えると核外へと移行するため、下流の遺伝子群の転写は抑えられる。このような調節は酵母において窒素源を効率的に利用する上で重要であり、筆者らの結果は液胞内アミノ酸が細胞内のアミノ酸ホメオスタシスに寄与することを示唆している。一方、Ypqタンパク質では、Ypq1がLysの欠乏に応答して液胞内腔へと移行し分解されることが報告されている<sup>46)</sup>。リソソームに再構成されたYpq1はLys非存在下で凝集することが示され、液胞内での分解との関連が議論されている<sup>28)</sup>。一方、Ypq3はHisが欠乏すると細胞内レベルが上昇する<sup>25)</sup>。他にも、Avt4が栄養条件の変化に伴ってリン酸化状態が変化したり<sup>45)</sup>、動物のPQLC2の活性がリソソーム内外のアミノ酸濃度に応答して変化したりするなど<sup>47)</sup>、液胞/リソソームアミノ酸トランスポーターが多様な調節を受けることが示唆されている。これらについて、上流の情報伝達経路も含め、今後その分子機構解明が進むと考えられる。

## 6. トランスセプターとしての働き

mTORC1は細胞内のアミノ酸および細胞外の成長因子を感知し、アミノ酸代謝、タンパク質合成、オートファジー等を調節する<sup>48)</sup>。近年、細胞内の栄養情報がmTORC1へと伝達される仕組みが続々と明らかとなっており、その中でリソソームアミノ酸トランスポーターの役割が注目されている。mTORC1はRagulator複合体との結合によってリソソーム膜に局在しており、SLC38A9はリソソーム膜を介したアミノ酸輸送の他に、RagAのGEF(グアニンヌクレオチド交換因子)としてmTORC1を活性化することが報告された<sup>5, 6, 49)</sup>。構造解析よりアミノ酸枯渇時にはSLC38A9のN末端親水性領域にあるプラグ状構造が基質輸送に関わる膜貫通ヘリックスの間に挿入されることでアミノ酸輸送活性を抑えているが、アミノ酸が供給されるとこのプラグ状構造が外れ、Ragulator-Rag複合体と相互作用しGEFとしての機能を発揮するとの作用モデルが提唱されている<sup>50, 51)</sup>。他にもPQLC2はC9orf72-SMCR8-WDR41複合体との相互作用を介してTORC1の活性調節に関与することが報告され<sup>52)</sup>、シスチノシンはシスチン輸送に伴う特定のコンホメーションに依存してRagulator-Rag複合体と結合しmTORC1活性化に寄与することが示唆されている<sup>9)</sup>。各々のケースでTORC1と相互作用した後、どのようなメカニズムで活性を調節するのかについては今後明らかにされていくであろう。

## 7. おわりに

分解オルガネラとしての液胞内/リソソームの重要性は飛躍的に広く認識されるようになったが、分解が終点ではなく、結果生じた分解産物を液胞/リソソーム外へと排出し再利用することは、液胞/リソソーム機能を正常に維持し、飢餓条件での生存維持に寄与する上で必須と考えられる。その基幹装置である液胞/リソソームトランスポーターの同定・解析は、液胞/リソソーム機能破綻とそれによる疾病の発症メカニズム解明と治療法の開発、さらに分解産物リサイクルの生理的意義の理解に貢献する。また、植物や微生物のような生育場所を自力で変えることができない生物では、突然のストレス条件に応答した多様な物質の液胞内への隔離が細胞内ホメオスタシスに非常に重要な意味を持つ。アミノ酸を例にとっても、特定アミノ酸の過剰は酵母において細胞成長を抑制することが知られており、サイトゾル中アミノ酸のバランスを維持する上で液胞は重要な役割を果たす可能性がある。また、酸化ストレスを軽減するためにサイトゾル中のCysを液胞内に隔離したり、Lysを液胞内に蓄積したりしているとの報告もある<sup>53, 54)</sup>。こうしたタンパク質合成の材料として以外のアミノ酸の役割に迫る上でも液胞/リソソームアミノ酸トランスポーターの関与や、その調節に関する知見は今後重要性を増してくるであろう。

液胞/リソソームは分解酵素を大量に含むため、その単離および輸送活性測定中のトランスポーターの分解と脱修飾は避けられない。また、液胞/リソソーム膜小胞中にアミノ酸を前負荷し排出活性を検出できたとしても、その速度論的解析は不可能である。そのため、トランスポーターの輸送活性を正確に把握する上でリソソームへの再構成系を確立することが急務である。これと関連して、立体構造情報も現在は限定的である。基質との結合様式や基質輸送に伴う構造変化だけでなく、輸送活性の調節においても翻訳後修飾や他タンパク質との相互作用による構造変化に関わる知見が集積すれば、トランスセプターとしてのシグナル伝達のメカニズムについても理解が深まる。液胞/リソソームによるアミノ酸供給・アミノ酸コンパートメンテーションを細胞内アミノ酸ホメオスタシスの新たなプレイヤーとして加える上で、液胞/リソソームアミノ酸トランスポーターの解析は中心的役割を果たすと考えられる。

## 文 献

- 1) Parzych, K.R. & Klionsky, D.J. (2019) Vacuolar hydrolysis and efflux: Current knowledge and unanswered questions. *Autophagy*, **15**, 212-227.
- 2) McIntire, S.L., Reimer, R.J., Schuske, K., Edwards, R.H., & Jorgensen, E.M. (1997) Identification and characterization of the vesicular GABA transporter. *Nature*, **389**, 870-876.
- 3) Sagne, C., El Mestikawy, S., Isambert, M.F., Hamon, M., Henry, J.P., Giros, B., & Gasnier, B. (1997) Cloning of a functional vesicular GABA and glycine transporter by screening of genome databases. *FEBS Lett.*, **417**, 177-183.
- 4) Sagne, C., Agulhon, C., Ravassard, P., Darmon, M., Hamon, M., El Mestikawy, S., Gasnier, B., & Giros, B. (2001) Identification and characterization of a lysosomal transporter for small neutral amino acids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 7206-7211.
- 5) Rebsamen, M., Pochini, L., Stasyk, T., de Araujo, M.E., Galluccio, M., Kandasamy, R.K., Snijder, B., Fauster, A., Rudashevskaya, E.L., Bruckner, M., et al. (2015) SLC38A9 is a component of the lysosomal amino acid sensing machinery that controls mTORC1. *Nature*, **519**, 477-481.
- 6) Wang, S., Tsun, Z.Y., Wolfson, R.L., Shen, K., Wyant, G.A., Plovanich, M.E., Yuan, E.D., Jones, T.D., Chantranupong, L., Comb, W., et al. (2015) Metabolism. Lysosomal amino acid transporter SLC38A9 signals arginine sufficiency to mTORC1. *Science*, **347**, 188-194.
- 7) Scalise, M., Galluccio, M., Pochini, L., Cosco, J., Trotta, M., Rebsamen, M., Superti-Furga, G., & Indiveri, C. (2019) Insights into the transport side of the human SLC38A9 transceptor. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.*, **1861**, 1558-1567.
- 8) Lei, H.T., Ma, J., Sanchez Martinez, S., & Gonen, T. (2018) Crystal structure of arginine-bound lysosomal transporter SLC38A9 in the cytosol-open state. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **25**, 522-527.
- 9) Guo, X., Schmiede, P., Assafa, T.E., Wang, R., Xu, Y., Donnelly, L., Fine, M., Ni, X., Jiang, J., Millhauser, G., et al. (2022) Structure and mechanism of human cystine exporter cystinosin. *Cell*, **185**, 3739-3752.e18.
- 10) Lobel, M., Salphati, S.P., El Omari, K., Wagner, A., Tucker, S.J., Parker, J.L., & Newstead, S. (2022) Structural basis for proton coupled cystine transport by cystinosin. *Nat. Commun.*, **13**, 4845.



- 11) Jezegou, A., Llinares, E., Anne, C., Kieffer-Jaquinod, S., O'Regan, S., Aupetit, J., Chabli, A., Sagne, C., Debacker, C., Chade-faux-Vekemans, B., et al. (2012) Heptahelical protein PQLC2 is a lysosomal cationic amino acid exporter underlying the action of cysteamine in cystinosis therapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, E3434–E3443.
- 12) Daniel, H. & Kottra, G. (2004) The proton oligopeptide cotransporter family SLC15 in physiology and pharmacology. *Pflugers Arch.*, **447**, 610–618.
- 13) Kobayashi, T., Shimabukuro-Demoto, S., Yoshida-Sugitani, R., Furuyama-Tanaka, K., Karyu, H., Sugiura, Y., Shimizu, Y., Hosaka, T., Goto, M., Kato, N., et al. (2014) The histidine transporter SLC15A4 coordinates mTOR-dependent inflammatory responses and pathogenic antibody production. *Immunity*, **41**, 375–388.
- 14) Ohsumi, Y., Kitamoto, K., & Anraku, Y. (1988) Changes induced in the permeability barrier of the yeast plasma membrane by cupric ion. *J. Bacteriol.*, **170**, 2676–2682.
- 15) Ohsumi, Y. & Anraku, Y. (1981) Active transport of basic amino acids driven by a proton motive force in vacuolar membrane vesicles of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.*, **256**, 2079–2082.
- 16) Russnak, R., Konczal, D., & McIntire, S.L. (2001) A family of yeast proteins mediating bidirectional vacuolar amino acid transport. *J. Biol. Chem.*, **276**, 23849–23857.
- 17) Sekito, T., Chardwiryapreecha, S., Sugimoto, N., Ishimoto, M., Kawano-Kawada, M., & Kakinuma, Y. (2014) Vacuolar transporter Avt4 is involved in excretion of basic amino acids from the vacuoles of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **78**, 969–975.
- 18) Sato, T., Ohsumi, Y., & Anraku, Y. (1984) Substrate specificities of active transport systems for amino acids in vacuolar-membrane vesicles of *Saccharomyces cerevisiae*. Evidence of seven independent proton/amino acid antiport systems. *J. Biol. Chem.*, **259**, 11505–11508.
- 19) Tone, J., Yoshimura, A., Manabe, K., Murao, N., Sekito, T., Kawano-Kawada, M., & Kakinuma, Y. (2015) Characterization of Avt1p as a vacuolar proton/amino acid antiporter in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **79**, 782–789.
- 20) Chahomchuen, T., Hondo, K., Ohsaki, M., Sekito, T., & Kakinuma, Y. (2009) Evidence for Avt6 as a vacuolar exporter of acidic amino acids in *Saccharomyces cerevisiae* cells. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **55**, 409–417.
- 21) Tone, J., Yamanaka, A., Manabe, K., Murao, N., Kawano-Kawada, M., Sekito, T., & Kakinuma, Y. (2015) A vacuolar membrane protein Avt7p is involved in transport of amino acid and spore formation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **79**, 190–195.
- 22) Gao, X.D., Wang, J., Keppler-Ross, S., & Dean, N. (2005) *ERS1* encodes a functional homologue of the human lysosomal cystine transporter. *FEBS J.*, **272**, 2497–2511.
- 23) Cools, M., Lissou, S., Bodo, E., Ulloa-Calzonzin, J., DeLuna, A., Georis, I., & Andre, B. (2020) Nitrogen coordinated import and export of arginine across the yeast vacuolar membrane. *PLoS Genet.*, **16**, e1008966.
- 24) Sekito, T., Nakamura, K., Manabe, K., Tone, J., Sato, Y., Murao, N., Kawano-Kawada, M., & Kakinuma, Y. (2014) Loss of ATP-dependent lysine uptake in the vacuolar membrane vesicles of *Saccharomyces cerevisiae* *ypq1* mutant. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **78**, 1199–1202.
- 25) Manabe, K., Kawano-Kawada, M., Ikeda, K., Sekito, T., & Kakinuma, Y. (2016) Ypq3p-dependent histidine uptake by the vacuolar membrane vesicles of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **80**, 1125–1130.
- 26) Kawano-Kawada, M., Manabe, K., Ichimura, H., Kimura, T., Harada, Y., Ikeda, K., Tanaka, S., Kakinuma, Y., & Sekito, T. (2019) A PQ-loop protein Ypq2 is involved in the exchange of arginine and histidine across the vacuolar membrane of *Saccharomyces cerevisiae*. *Sci. Rep.*, **9**, 15018.
- 27) Sato, T., Ohsumi, Y., & Anraku, Y. (1984) An arginine/histidine exchange transport system in vacuolar-membrane vesicles of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.*, **259**, 11509–11511.
- 28) Arines, F.M., Wielenga, A., Burata, O.E., Garcia, F.N., Stockbridge, R.B., & Li, M. (2023) Lysosome transporter purification and reconstitution identifies Ypq1 pH-gated lysine transport and regulation. *bioRxiv*, 2023.03.31.535002.
- 29) Yamamoto, T., Fujimura-Kamada, K., Shioji, E., Suzuki, R., & Tanaka, K. (2017) Cfs1p, a novel membrane protein in the PQ-loop family, is involved in phospholipid flippase functions in yeast. *G3 (Bethesda)*, **7**, 179–192.
- 30) Miyasaka, M., Mioka, T., Kishimoto, T., Itoh, E., & Tanaka, K. (2020) A complex genetic interaction implicates that phospholipid asymmetry and phosphate homeostasis regulate Golgi functions. *PLoS One*, **15**, e0236520.
- 31) Kawano-Kawada, M., Ichimura, H., Ohnishi, S., Yamamoto, Y., Kawasaki, Y., & Sekito, T. (2021) Ygr125w/Vsb1-dependent accumulation of basic amino acids into vacuoles of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **85**, 1157–1164.
- 32) Shimazu, M., Sekito, T., Akiyama, K., Ohsumi, Y., & Kakinuma, Y. (2005) A family of basic amino acid transporters of the vacuolar membrane from *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.*, **280**, 4851–4857.
- 33) Yang, Z., Huang, J., Geng, J., Nair, U., & Klionsky, D.J. (2006) Atg22 recycles amino acids to link the degradative and recycling functions of autophagy. *Mol. Biol. Cell*, **17**, 5094–5104.
- 34) Suriapranata, I., Epple, U.D., Bernreuther, D., Bredschneider, M., Sovarasteanu, K., & Thumm, M. (2000) The breakdown of autophagic vesicles inside the vacuole depends on Aut4p. *J. Cell Sci.*, **113**, 4025–4033.
- 35) Uemura, T., Tomonari, Y., Kashiwagi, K., & Igarashi, K. (2004) Uptake of GABA and putrescine by UGA4 on the vacuolar membrane in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **315**, 1082–1087.
- 36) Chardwiryapreecha, S., Mukaiyama, H., Sekito, T., Iwaki, T., Takegawa, K., & Kakinuma, Y. (2010) Avt5p is required for vacuolar uptake of amino acids in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *FEBS Lett.*, **584**, 2339–2345.
- 37) Chardwiryapreecha, S., Shimazu, M., Morita, T., Sekito, T., Akiyama, K., Takegawa, K., & Kakinuma, Y. (2008) Identification of the *fnx1<sup>+</sup>* and *fnx2<sup>+</sup>* genes for vacuolar amino acid transporters in *Schizosaccharomyces pombe*. *FEBS Lett.*, **582**, 2225–2230.
- 38) Sugimoto, N., Iwaki, T., Chardwiryapreecha, S., Shimazu, M., Sekito, T., Takegawa, K., & Kakinuma, Y. (2010) Vba2p, a vacuolar membrane protein involved in basic amino acid transport in *Schizosaccharomyces pombe*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **74**, 2166–2169.
- 39) Pongcharoen, P., Kawano-Kawada, M., Iwaki, T., Sugimoto, N., Sekito, T., Akiyama, K., Takegawa, K., & Kakinuma, Y. (1988-1990) Functional expression of *Schizosaccharomyces pombe* Vba2p in the vacuolar membrane of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **77**, 1988–1990.
- 40) Chardwiryapreecha, S., Manabe, K., Iwaki, T., Kawano-Kawada, M., Sekito, T., Lunprom, S., Akiyama, K., Takegawa,

- K., & Kakinuma, Y. (2015) Functional expression and characterization of *Schizosaccharomyces pombe* Avt3p as a vacuolar amino acid exporter in *Saccharomyces cerevisiae*. *PLoS One*, **10**, e0130542.
- 41) Kawano-Kawada, M., Ueda, T., Mori, H., Ichimura, H., Takegawa, K., & Sekito, T. (2021) Stm1 is a vacuolar PQ-loop protein involved in the transport of basic amino acids in *Schizosaccharomyces pombe*. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.*, **1863**, 183507.
- 42) Ohnishi, S., Kawano-Kawada, M., Yamamoto, Y., Akiyama, K., & Sekito, T. (2022) A vacuolar membrane protein Vsb1p contributes to the vacuolar compartmentalization of basic amino acids in *Schizosaccharomyces pombe*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **86**, 763–769.
- 43) Lunprom, S., Pongcharoen, P., Sekito, T., Kawano-Kawada, M., Kakinuma, Y., & Akiyama, K. (2015) Characterization of vacuolar amino acid transporter from *Fusarium oxysporum* in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **79**, 1972–1979.
- 44) Fujiki, Y., Teshima, H., Kashiwao, S., Kawano-Kawada, M., Ohsumi, Y., Kakinuma, Y., & Sekito, T. (2017) Functional identification of *AtAVT3*, a family of vacuolar amino acid transporters, in *Arabidopsis*. *FEBS Lett.*, **591**, 5–15.
- 45) Sato, A., Kimura, T., Hondo, K., Kawano-Kawada, M., & Sekito, T. (2021) The vacuolar amino acid transport system is a novel, direct target of GATA transcription factors. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **85**, 587–599.
- 46) Li, M., Rong, Y., Chuang, Y.S., Peng, D., & Emr, S.D. (2015) Ubiquitin-dependent lysosomal membrane protein sorting and degradation. *Mol. Cell*, **57**, 467–478.
- 47) Leray, X., Conti, R., Li, Y., Debacker, C., Castelli, F., Fenaille, F., Zdebik, A.A., Pusch, M., & Gasnier, B. (2021) Arginine-selective modulation of the lysosomal transporter PQLC2 through a gate-tuning mechanism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **118**, e2025315118.
- 48) Battaglioli, S., Benjamin, D., Walchli, M., Maier, T., & Hall, M.N. (2022) mTOR substrate phosphorylation in growth control. *Cell*, **185**, 1814–1836.
- 49) Shen, K., & Sabatini, D.M. (2018) Ragulator and SLC38A9 activate the Rag GTPases through noncanonical GEF mechanisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **115**, 9545–9550.
- 50) Fromm, S.A., Lawrence, R.E., & Hurley, J.H. (2020) Structural mechanism for amino acid-dependent Rag GTPase nucleotide state switching by SLC38A9. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **27**, 1017–1023.
- 51) Lei, H.T., Mu, X., Hattne, J., & Gonen, T. (2021) A conformational change in the N terminus of SLC38A9 signals mTORC1 activation. *Structure*, **29**, 426–432.e8.
- 52) Talaia, G., Amick, J., & Ferguson, S.M. (2021) Receptor-like role for PQLC2 amino acid transporter in the lysosomal sensing of cationic amino acids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **118**, e2014941118.
- 53) Hughes, C.E., Coody, T.K., Jeong, M.Y., Berg, J.A., Winge, D.R., & Hughes, A.L. (2020) Cysteine toxicity drives age-related mitochondrial decline by altering iron homeostasis. *Cell*, **180**, 296–310.e18.
- 54) Olin-Sandoval, V., Yu, J.S.L., Miller-Fleming, L., Alam, M.T., Kamrad, S., Correia-Melo, C., Haas, R., Segal, J., Pena Navarro, D.A., Herrera-Dominguez, L., et al. (2019) Lysine harvesting is an antioxidant strategy and triggers underground polyamine metabolism. *Nature*, **572**, 249–253.

## 著者寸描

### ●関藤 孝之 (せきとう たかゆき)

愛媛大学大学院農学研究科 教授。博士 (理学)。

■略歴 1991年広島大学理学部生物学科卒業。96年同大学院理学研究科生物学博士課程修了。その後日本学術振興会特別研究員、テキサス大学博士研究員、自然科学研究機構特別協力研究員等を経て2016年より現職。

■研究テーマと抱負 オートファジー分解産物リサイクルの分子装置とその生理について、トランスポーター研究を起点に理解を深めていきたい。

■ウェブサイト <http://web.agr.chime-u.ac.jp/~idenshi/index.html>

■趣味 80's洋楽、SLの動画鑑賞、ビール。

### ●河田 (河野) 美幸 (かわだ-かわの みゆき)

愛媛大学大学院農学研究科 准教授。博士 (臨床薬学)。

■略歴 1997年千葉大学薬学部総合薬品科学科卒業。2003年同大学院薬学研究院博士課程修了。同年国立感染症研究所細胞化学部協力研究員。04年日本学術振興会特別研究員 (PD)。07年同志社女子大学薬学部特別任用助教。10年愛媛大学総合科学研究支援センター助教。16年より現職。

■研究テーマと抱負 液胞膜を介したアミノ酸輸送のメカニズムとその調節機構および生理的意義の解明。

■ウェブサイト <http://web.agr.chime-u.ac.jp/~idenshi/index.html>

■趣味 音楽鑑賞 & 演奏。