

BIOLOGIA DELS TRANSPORTADORS DE GLUCOSA DE DIFUSIÓ FACILITADA. REDISTRIBUCIÓ CEL·LULAR DE TRANSPORTADORS DE GLUCOSA EN RESPOSTA A HORMONES

ANTONIO ZORZANO, MARTA CAMPS, ANNA CASTELLÓ, ANNA GUMÀ, PERLA KALIMAN, SILVIA MORA, PURIFICACIÓN MUÑOZ, MANUEL PALACÍN, TOMÀS SANTALUCÍA, XAVIER TESTAR I FRANCESC VIÑALS.

Departament de Bioquímica i Biologia Molecular, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona. Av. Diagonal, 645. 08028 Barcelona. Tel. 4021519, fax: 4021559.

INTRODUCCIÓ

La glucosa és la font d'energia més important per a les cèl·lules dels mamífers. La seva oxidació en condicions aeròbiques o anaeròbiques abasteix constantment d'ATP les cèl·lules. Després de la ingesta, l'excés de glucosa s'emmagatzema al fetge i als músculs en forma de glicogen i al teixit adipós en forma de triacilglicèrids. La reserva de glucosa en forma de glicogen en el fetge és fonamental per a tamponar els nivells de glucosa a la sang i els dipòsits de glicogen dels músculs són una important font d'energia durant l'exercici. D'altra banda, els triacilglicèrids del teixit adipós representen una forma compacta d'emmagatzemament d'energia, que es mobilitza en forma d'àcids grassos i glicerol en condicions catabòliques. Tanmateix, tant la glucosa com els seus derivats representen importants components estructurals per a moltes macromolècules biològiques tals com glicoproteïnes,

glicolípidis, proteoglicans i àcids nucleics.

La membrana plasmàtica és impermeable als soluts polars com la glucosa, de manera que la captació cel·lular d'aquest nutrient es dona gràcies a proteïnes transportadores localitzades a la membrana plasmàtica que lliguen i transfereixen aquest substrat a través de la bicapa lipídica. Els transportadors de glucosa, a part de ser específics i permetre el pas de molècules hidrofíliques a través de la bicapa lipídica, a compleixen la important funció de regular la redistribució de glucosa entre els diferents teixits. De manera que, per exemple, després de la ingesta, la glucosa es distribueix majoritàriament cap al fetge, al teixit adipós i als músculs, i per altra banda en tot moment s'assegura la disponibilitat de glucosa al sistema nerviós central.

En les cèl·lules dels mamífers s'han descrit dues famílies de transportadors de glu-

cosa: 1) els cotransportadors Na^+ -glucosa, que medien la captació activa de glucosa en contra de la seva concentració, i 2) els transportadors de glucosa de difusió facilitada que medien el transport de glucosa passiu, saturable i bidireccional a favor del seu gradient de concentració. En aquesta revisió centrarem la nostra atenció en els transportadors de glucosa de difusió facilitada.

TRANSPORTADORS DE GLUCOSA DE DIFUSIÓ FACILITADA

Tret de la captació activa de glucosa al lumen de l'intestí prim i del tub proximal del ronyó, el transport de glucosa a través de la membrana plasmàtica de les cèl·lules dels mamífers es dona per difusió facilitada. Aquest procés, independent d'energia, ve mediat per una família de proteïnes de membrana relacionades estructuralment, codificades per gens diferents i amb una expressió específica de teixit.

El transport de glucosa mediat per aquestes proteïnes és saturable, estereoselectiu i bidireccional (encara que moltes vegades la cinètica de transport cap a dins o cap a fora no sigui idèntica). Es pensa que el transport de glucosa i d'altres sucres a través dels transportadors de glucosa de difusió facilitada es dona per un mecanisme en què el transportador alterna dos estats conformacionals: un, amb el lloc d'unió al substrat orientat a la cara extracel·lular i l'altre, amb el lloc d'unió orientat cap a la cara citoplasmàtica de la membrana plasmàtica (Walmsley, 1988; Carruthers, 1990). La unió de la glucosa a un dels llocs produeix la conversió del transportador a l'altre estat conformacional. L'existència de la separació estructural d'aquests dos llocs d'unió s'ha confirmat amb estudis cinètics realitzats amb diferents lligands que competeixen específicament

per un dels dos llocs d'unió (Cairns *et al.*, 1987; Wadzinski *et al.*, 1988; Holman *et al.*, 1990).

En el procés de difusió facilitada, la direcció neta del flux de glucosa ve determinada per la concentració relativa d'aquest substrat en ambdós costats de la membrana. A la majoria de cèl·lules, la concentració de glucosa lliure és molt baixa, ja que aquesta és fosforilada ràpidament per diferents hexoquinases. Per tant, el flux de glucosa acostuma a ser cap a dins de la cèl·lula. De tota manera, en alguns casos, la glucosa és transportada cap a fora. Aquesta situació es dona a les cèl·lules dels epitelis de l'intestí o del ronyó que han de lliurar la glucosa que han absorbit o reabsorbit cap a la circulació. En aquestes cèl·lules els cotransportadors Na^+ -glucosa són els responsables de la captació activa de glucosa i els transportadors de difusió facilitada medien la sortida d'aquest substrat cap a l'espai intersticial. Als hepatòcits, els transportadors de difusió facilitada medien la captació de glucosa després de la ingesta i la sortida de la glucosa generada per glicogenòlisi o gluconeogènesi en l'estat postabsortiu o durant el dejuni.

S'han aïllat sis cDNA que codifiquen diferents isoformes de transportadors de difusió facilitada a partir de biblioteques de cDNA procedents de diferents teixits humans i de rata. Les diferents isoformes que s'han clonat fins al moment s'han designat GLUT seguit d'un número basat en l'ordre cronològic del clonatge de la isoforma o pel nom del teixit o tipus cel·lular en què són més abundants. Així tenim: GLUT1/eritròcit, GLUT2/fetge, GLUT3/cervell, GLUT4/múscul-teixit adipós, GLUT5/intestí prim i GLUT7/reticle endoplasmàtic (Taula I). Cada isoforma té un patró d'expressió diferent, tant pel que fa als tipus cel·lulars com als nivells d'expressió, que el distingeix dels altres membres de la família de transportadors. Alhora, cada teixit o tipus cel·lular,

TAULA I. La família de transportadors de glucosa de difusió facilitada

Isoforma	Mida	K _m	Distribució tissular	Funció
GLUT1	492	5	Cervell, cèl. endotelials, placenta, eritròcits, glàndula mamària	Transport basal Transport en barreres sang/teixits
GLUT2	524	6-12	Ronyó, intestí prim fetge, cèl. β -pancreàtiques	Transportador de baixa afinitat Transportador basolateral de cèl. epiteliais Sortida de glucosa del fetge
GLUT3	496	1-2	Neurones, placenta	Transportador d'alta afinitat Transport basal
GLUT4	509	5	Múscul i teixit adipós	Transport de glucosa estimulat per insulina
GLUT5	501		Intestí prim, ronyó, testicles i esperma	Transportador de fructosa
GLUT7	528		Fetge	Sortida de glucosa acoblada a glucosa-6-fosfatasa en reticle endoplàsmic

La mida indica en nombre de residus aminoacídics que constitueixen cada isoforma
La K_m és per a la D-glucosa i els valors s'expressen en mM

com es veurà més endavant, pot expressar més d'una isoforma. A part d'aquestes sis isoformes funcionals de transportadors de glucosa per difusió facilitada, s'ha aïllat una seqüència del tipus pseudogèn (GLUT6) a teixits humans. Es tracta d'un transcrit d'11 kb homòleg a GLUT3 que s'expressa de manera ubiqua en els teixits humans, però que a conseqüència de múltiples codons de *stop* i desplaçaments de la pauta de lectura no codifica per una proteïna funcional. La sonda de GLUT6 no hibrida amb DNA de ratolí en condicions normals: aquest fet indica que aquest pseudogèn podria no estar present en totes les espècies (Fan *et al.*, 1989).

El GLUT1 humà va ser el primer transportador de glucosa que es va clonar (Mueckler *et al.*, 1985). L'aïllament del cDNA que codifica el GLUT1 humà i el de rata va permetre que es pogués abordar l'estudi del transport de glucosa en les cèl·lules de mamífers amb un enfocament molecular. A més a més, l'ús del cDNA humà o de rata

com a sonda per fer crivellatges de biblioteques de cDNA preparades a partir de diferents teixits, en condicions que permetessin la hibridació creuada, va permetre la identificació de la resta de components de la família de proteïnes transportadores de glucosa.

L'anàlisi de la seqüència deduïda del GLUT1 humà, incloent-hi les determinacions d'hidropatia i les determinacions de l'estructura secundària, ha revelat que es tracta d'una proteïna extremament hidrofòbica i han suggerit que aproximadament el 50 % de la proteïna està dins de la bicapa lipídica. Basant-se en aquestes anàlisis, Mueckler *et al.* (1985) han proposat un model per a la topologia de GLUT1. Les característiques essencials d'aquest model són: (a) 12 dominis transmembrana molt hidrofòbics connectats per segments hidrofílics, amb els extrems $-NH_2$ i $-COOH$ orientats internament, (b) un domini intracel·lular fortament carregat, constituït per 65 aminoàcids hidrofílics entre els dominis transmembrana M6 i M7 i (c) un

segment extracel·lular de 33 aminoàcids entre els dominis transmembrana M1 i M2 que contindria un únic punt de glicosilació a l'asparagina 45 (Mueckler *et al.*, 1985) (Figura 1).

Algunes de les característiques topològiques d'aquest model estructural de GLUT1 s'han confirmat amb anticossos antipeptídics dirigits contra els extrems $-NH_2$ i $-COOH$ de la proteïna i mitjançant la digestió amb tripsina i glicosidasa. Especialment, s'ha confirmat el fet que l'oligosacàrid N-lligat és a l'Asn de la primera nansa exoplasmàtica i que la nansa llarga hidrofílica que connectaria els segments transmembrana M6 i M7 és a la cara citoplasmàtica de la membrana plasmàtica (Shanahan i Dartelellis, 1984; Cairns *et al.*, 1984; Cairns *et al.*, 1987; Davies *et al.*, 1987; Andersson i Lundahl, 1988; Haspel *et al.*, 1988). Mesures biofísiques han mostrat que el GLUT1 purificat a partir d'eritròcits humans i reconstituït en liposomes té

configuració alfa-helicoïdal. Així, els segments transmembrana formen hèlixs alfa perpendiculars al pla de la bicapa lipídica (Chin *et al.*, 1986; Chin *et al.*, 1987). A més, aquest model estructural de GLUT1 ha estat confirmat mitjançant la utilització de mutagènesi per escombratge, mètode en el qual s'elimina la N-glicosilació de l'Asn 45 i es creen nous llocs putatius de glicosilació en diferents segments extracel·lulars i intracel·lulars (Hresko *et al.*, 1994). No obstant això, també hi ha dades que contradiuen el model fins ara explicat. Així, Fischbarg i els seus col·laboradors (1993) han suggerit que el segment putatiu citoplasmàtic que uneix M10 i M11 estaria localitzat extracel·lularment.

Els sis transportadors de glucosa que s'han identificat fins al moment es caracteritzen pel fet de tenir una mida similar, entre 492 i 524 aminoàcids (Taula I). Les anàlisis de les seqüències d' aminoàcids deduïdes

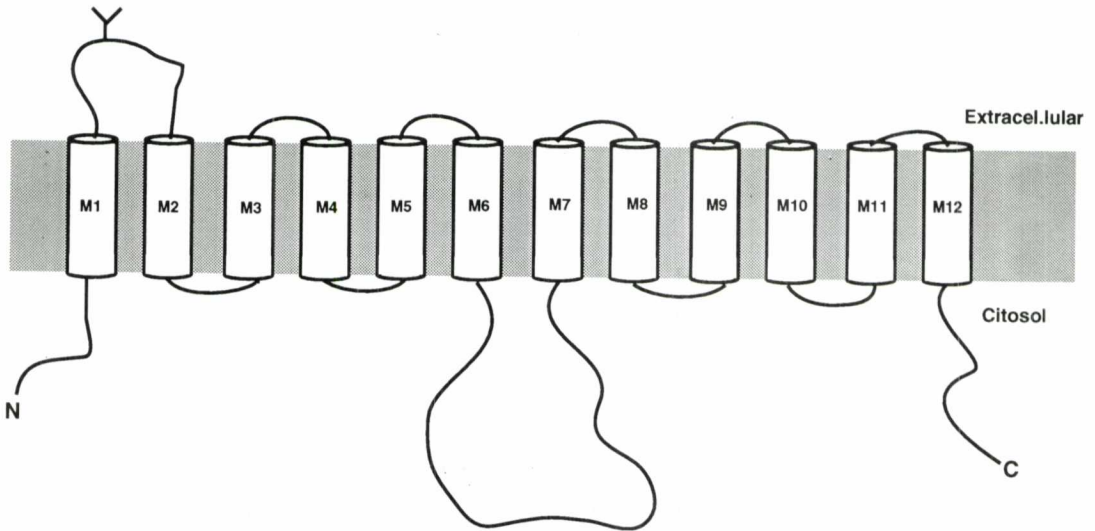


FIGURA 1. Model d'orientació dels transportadors de glucosa de difusió facilitada. Els dotze dominis transmembrana es mostren com a caixes numerades M1-M12. El símbol indica el lloc putatiu de glicosilació localitzat entre els dominis transmembrana 1 i 2.

de les diferents isoformes suggereixen que poden tenir una orientació a la membrana plasmàtica semblant a la de GLUT1, incloent-hi els dotze segments transmembrana, els extrems $-NH_2$ i $-COOH$ orientats intracel·lularment, la nansa llarga extracel·lular que connectaria els segments transmembrana M1 i M2, que contindria un únic lloc *consensus* de glicosilació, i el segment hidrofílic gran intracel·lular que uniria els dominis transmembrana M6 i M7. Entre les diferents isoformes humanes clonades (GLUT1-GLUT5) hi ha una identitat en la seqüència d'aminoàcids d'un 39-65 % i una similitud d'un 50-76 %. Entre les cinc isoformes de transportadors humans un 26 % dels aminoàcids són idèntics i un altre 13 % representa substitucions conservades d'aminoàcids. En general, les regions més divergents entre les diferents isoformes són els dominis dels extrems $-NH_2$ i $-COOH$ i el segment extracel·lular que connectaria els dominis M1 i M2 (Bell *et al.*, 1990).

Les cinc isoformes identificades fins al moment són productes de diferents gens, no hi ha evidències que es doni maduració (*splicing*) alternativa que creï diversitat addicional. S'han determinat les localitzacions cromosòmiques dels gens que codifiquen els diferents transportadors de glucosa humans. Aquests gens no es troben en un mateix punt del genoma, sinó que estan dispersats. Els gens de GLUT1 i GLUT5 són a diferents regions del braç curt del cromosoma 1, i els de GLUT2, GLUT3 i GLUT4 són localitzats als cromosomes 3, 12 i 17, respectivament (Shows *et al.*, 1987; Fukumoto *et al.*, 1988b; Kayano *et al.*, 1988; Fan *et al.*, 1989; Bell *et al.*, 1989). S'han aïllat els gens de GLUT1, GLUT2 i GLUT4, i malgrat que les seves mides varien considerablement, de 8 (GLUT4) a 35 (GLUT1) kb, les organitzacions en introns i exons són molt similars (Fukumoto *et al.*, 1988a; Kusari *et al.*, 1991; Muraoka *et al.*, 1991; Takeda *et al.*, 1993). El

gen de GLUT1, que va ser el primer que es va caracteritzar, té deu exons (Fukumoto *et al.*, 1988a; Williams i Birnbaum, 1988), mentre que els gens de GLUT2 i GLUT4 tenen onze exons. En aquests últims hi ha un intró addicional que subdivideix l'exó 4 de GLUT1 en dos exons que s'han designat 4a i 4b. El gen de GLUT5, que s'ha caracteritzat parcialment, té un intró que no és present en els altres gens, que subdivideix l'exó 9 en l'exó 9a i 9b. Els introns comuns a les diferents isoformes interrompen les regions codificants en posicions idèntiques en cada gen, excepte pel que fa a l'intró 1, que té una posició absoluta que varia lleugerament (Bell *et al.*, 1990).

Vegem a continuació alguns dels aspectes més característics de les diferents isoformes de transportadors de glucosa que funcionen per difusió facilitada.

GLUT1

Aquest transportador ja s'havia caracteritzat bioquímicament abans del seu clonatge. El fet de ser molt abundant en eritròcits humans –representa un 5 % del total de les proteïnes de membrana d'aquest tipus cel·lular– va permetre'n la purificació i l'obtenció d'anticossos antitransportador. Inicialment, es va aïllar el cDNA que codifica el GLUT1 humà a partir d'una biblioteca d'expressió de la línia cel·lular d'hepatoma humà HepG2 amb anticossos policlonals obtinguts contra el transportador dels eritròcits humans (Mueckler *et al.*, 1985). El fet que aquest cDNA codificava un transportador de glucosa es va confirmar expressant la proteïna en bacterïes amb un sistema induïble (Sarkar *et al.*, 1988; Silverman, 1991); el transport de glucosa així detectat en bacterïes era esteroespecífic per a la D-glucosa i inhibït per citocalasina B i clorur de mercuri, fet que confirmava que codificava un polipèp-

tid que era realment el transportador de glucosa caracteritzat en els eritròcits humans (Silverman, 1991).

Fins al moment s'han clonat els cDNA de rata (Birnbaum *et al.*, 1986), ratolí (Kaestner *et al.*, 1989), conill (Asano *et al.*, 1988) i porc (Weilerguttler *et al.*, 1989). Tots aquests cDNA codifiquen proteïnes de 492 aminoàcids que presenten una identitat de seqüència amb la del GLUT1 humà de més del 97%. Aquest alt grau de conservació de la seqüència no es dona en tots els transportadors de glucosa per difusió facilitada, i fins al moment no està clar per què la seqüència de GLUT1 ha restat gairebé invariable al llarg de l'evolució dels mamífers.

GLUT1 és abundant al cervell, a la placenta, a les cèl·lules epitelials de la glàndula mamària i a les línies cel·lulars transformades (Madon *et al.*, 1990; Pessin i Bell, 1992; Camps *et al.*, 1994). L'expressió de GLUT1 també és elevada en teixits fetals, tals com el cor, el teixit adipós marró o el fetge, teixits que en animals adults presenten poca expressió de GLUT1 (Asano *et al.*, 1988; Santalucía *et al.*, 1992). Ja que a tots els teixits es detecten certs nivells de la proteïna o de l'mRNA de GLUT1, diferents autors han suggerit que aquest transportador pot ser responsable, si més no en part, del transport constitutiu de glucosa. Mitjançant estudis d'immunolocalització, s'ha mostrat que GLUT1 és molt abundant en les cèl·lules endotelials i epitelials que formen les barres sang-teixit dels teixits d'animals adults (Vilaró *et al.*, 1989; Takata *et al.*, 1990; Harik *et al.*, 1990a). Aquestes barreres inclouen: la barrera sang-cervell (Kalaria *et al.*, 1987; Kalaria *et al.*, 1988; Vilaró *et al.*, 1989; Bagley *et al.*, 1989), la barrera sang-nervi (Froehner *et al.*, 1988; Gerhart i Drewes, 1990), la barrera sang-ull (Takata *et al.*, 1990; Harik *et al.*, 1990b) i el sincitiotrofoblast placentari (Takata *et al.*, 1990; Barros *et al.*, 1992). Aquest fet indica que GLUT1 pot tenir un paper en la

transferència de glucosa a través d'aquestes barreres.

Els estudis cinètics realitzats amb eritròcits humans, que només expressen GLUT1, han mostrat que aquest transportador té una especificitat àmplia de substrats, ja que transporta diferents aldoses, incloent-hi pentoses i hexoses (Carruthers, 1990). Aquest transportador presenta una baixa afinitat per a la fructosa (K_m aproximada d'1,5 M) fet que indica que aquesta no és la via d'entrada d'aquesta important cetosa (Carruthers, 1990). La K_m per a la captació de D-glucosa és d'1-2 mM, mentre que la K_m per a l'efluxió de glucosa és un ordre de magnitud superior, la qual cosa indica que aquest transportador és asimètric. La cinètica del transport de glucosa en oòcits de *Xenopus* injectats amb mRNA de GLUT1 presenta una asimetria similar (Keller *et al.*, 1989; Gould *et al.*, 1991). Diferents evidències suggereixen que l'activitat intrínseca de GLUT1 es pot modular; de tota manera, encara no es coneixen les bases moleculars d'aquesta regulació (Harrison *et al.*, 1991a; Harrison *et al.*, 1991b). Així mateix s'ha descrit que GLUT1 s'associa formant estructures oligomèriques en cèl·lules intactes (Pessino *et al.*, 1991). Els estudis de radiació-inactivació suggereixen que GLUT1 en estat natiu forma homotèrmers; de moment, però, no és clar si aquest comportament de GLUT1 a les membranes intactes reflecteix una interacció cooperativa de l'estructura oligomèrica (Hebert i Carruthers, 1991).

GLUT2

Estudis bioquímics realitzats amb hepatòcits, abans de la clonació dels transportadors de glucosa, ja havien revelat que la cinètica del transport de glucosa era diferent a la del transportador dels eritròcits humans, és a dir, de GLUT1. Així, el transpor-

tador dels hepatòcits presentava una K_m per la glucosa deu vegades superior i una afinitat per la citocalasina B deu vegades inferior (Axelrod i Pilch, 1983). Amb el clonatge de GLUT1 es va evidenciar que el fetge no expressava grans quantitats de mRNA de GLUT1, fet que indicava l'existència d'un altre transportador en aquest teixit (Birnbaum *et al.*, 1986; Flier *et al.*, 1987). El clonatge de GLUT2 es va assolir fent un crivellatge d'una biblioteca de cDNA de fetge de rata i humà amb una sonda de GLUT1 utilitzant condicions de baixa astringència (Thorens *et al.*, 1988; Fukumoto *et al.*, 1988b). També s'ha clonat el GLUT2 de ratolí (Suzue *et al.*, 1989). Les proteïnes codificades per aquests clons aïllats tenen 522, 523 i 524 aminoàcids pel GLUT2 d'humà (Fukumoto *et al.*, 1988b), de rata (Thorens *et al.*, 1988) i de ratolí (Suzue *et al.*, 1989), respectivament. La seqüència de GLUT2 és un 55 % idèntica a la de GLUT1. L'estructura prevista per a aquest transportador és la mateixa que per a GLUT1, les seqüències de GLUT1 i GLUT2 són colinears amb l'excepció de la nansa que connecta els segments transmembrana M1 i M2. Aquesta nansa té 64 aminoàcids a GLUT2 *versus* els 32 que té a GLUT1, a més aquestes dues isoformes presenten també força divergència a l'extrem C-terminal.

La comparació de les seqüències d'aminoàcids de les proteïnes GLUT2 humana, de rata i de ratolí dona una identitat de seqüència d'un 82 % entre la forma humana i la de rata i d'un 95 % entre els transportadors de rata i de ratolí. Com ja s'ha discutit anteriorment, els nivells de conservació de la seqüència entre diferents espècies són més baixos que per a GLUT1.

La caracterització funcional del transportador s'ha dut a terme per expressió funcional del transportador en bacterïes (Thorens *et al.*, 1988) i per injecció del cRNA sintetitzat *in vitro* en oòcits de *Xenopus* (Vera i Rosen, 1989; Gould *et al.*, 1991) se-

guits de mesures de la captacions de glucosa. S'ha caracteritzat l'especificitat de substrats de GLUT2 expressat en oòcits: GLUT2 transporta glucosa, galactosa, mannososa i fructosa (Gould *et al.*, 1991). La capacitat de transportar fructosa només s'ha detectat a GLUT2 i GLUT5 (Gould *et al.*, 1991).

L'expressió tissular de GLUT2 és més restringida que la de GLUT1; així, només s'ha detectat al fetge, a l'intestí prim, al ronyó i a les cèl·lules β secretores d'insulina del pàncrees endocrí (Thorens *et al.*, 1988). La distribució tissular de GLUT2 suggereix que és responsable de realitzar la captació i l'alliberament de glucosa als hepatòcits, i que participa en el transport transepitelial de la glucosa absorbida o reabsorbida per l'intestí o pel ronyó, respectivament. La seva presència a les cèl·lules β pancreàtiques suggereix que pot tenir una funció en la regulació de la secreció d'insulina estimulada per la glucosa.

Els estudis de transport de glucosa realitzats amb hepatòcits aïllats han mostrat que: a) la K_m per la glucosa és alta, al voltant de 15-20 mM (Craik i Elliott, 1979); b) el transport és simètric (Craik i Elliott, 1979; Ciaraldi *et al.*, 1986); c) la concentració de citocalasina B a la qual es dona la inhibició semimàxima (K_i) del transport de glucosa és 1,9 mM, valor deu vegades superior a la K_i del transportador d'eritròcits humans (Axelrod i Pilch, 1983).

La cinètica de captació de glucosa de GLUT2 s'ha mesurat directament per expressió del transportador en oòcits de *Xenopus* injectats amb mRNA de GLUT2 (Gould *et al.*, 1991; Colville *et al.*, 1993). Els experiments han mostrat una K_m per a la captació de la 2-deoxi-D-glucosa de 17 mM (Burant i Bell, 1992), valor inferior al mesurat en teixits intactes, i un valor de 42 mM per a l'equilibri d'intercanvi de la 3-O-metilglucosa (Gould *et al.*, 1991). En ambdós casos, les K_m per al transport de glucosa són

clarament superiors a les que presenten els altres tipus de transportadors de glucosa mesurades en les mateixes condicions, i és una característica de GLUT2 l'alta K_m per a la glucosa. En oòcits de *Xenopus* injectats amb mRNA de GLUT2 el transport de 2-deoxiglucosa s'inhibeix en presència de D-fructosa (Gould *et al.*, 1991).

La presència d'un transportador amb una K_m entorn de 15-20 mM a les membranes plasmàtiques de les cèl·lules epitelials de l'intestí i del tub proximal del ronyó permet que la taxa de transport de glucosa a través de la membrana basolateral augmenti de manera lineal per a concentracions de glucosa entre 5 i 20 mM. Amb una K_m més baixa, per exemple com la de GLUT1, el transportador funcionaria a $V_{m\grave{a}x}$ a concentracions de 5 mM de glucosa, i la taxa de transport no augmentaria per sobre d'aquesta concentració. Per tant, aquesta característica cinètica de GLUT2 probablement es requereixi per a una absorció o reabsorció de glucosa eficient a través de les cèl·lules de l'intestí o de l'epiteli renal. La base estructural per aquesta baixa afinitat per la glucosa de GLUT2 no es coneix; en aquest sentit, s'ha postulat que podria estar en la llarga nansa extracel·lular entre el primer i segon domini transmembrana, però aquest fet encara no s'ha demostrat (Pessin i Bell, 1992).

GLUT3

Els clons de cDNA que codifiquen GLUT3 es van aïllar a partir d'una biblioteca de cDNA de múscul esquelètic fetal humà (Kayano *et al.*, 1988). Recentment, també s'ha clonat el GLUT3 de ratolí (Nagamatsu *et al.*, 1992). El GLUT3 humà té 496 residus i el de ratolí, 493 i la identitat d'ambdues seqüències és del 83 %. El GLUT3 humà presenta una identitat d'un 64 % i d'un 52 % amb el GLUT1 i el GLUT2 humans, respec-

tivament. Les regions més divergents són la nansa extracel·lular i el domini C-terminal (Kayano *et al.*, 1988).

L'mRNA de GLUT3 s'expressa en tots els teixits humans, però els nivells d'expressió més alts s'assoleixen al cervell, al ronyó i a la placenta (Kayano *et al.*, 1988). Aquest fet suggereix que aquest transportador podria ser responsable, juntament amb GLUT1, del transport basal de glucosa. Un fet sorprenent és que el patró d'expressió de GLUT3 és molt diferent en mones, conills, rates i ratolins: en aquestes espècies l'mRNA de GLUT3 es detecta amb alts nivells al cervell i és pràcticament indetectable als altres teixits (Yano *et al.*, 1991).

Els estudis d'hibridació *in situ* realitzats en ratolins i humans indiquen que GLUT3 s'expressa bàsicament a les neurones (Mantych *et al.*, 1992; Nagamatsu *et al.*, 1992). L'expressió de GLUT3 al cervell indica que hi ha dos transportadors implicats en la captació i la disponibilitat de glucosa al cervell, GLUT1 i GLUT3. S'ha proposat que GLUT1 seria responsable bàsicament del transport de glucosa a través de la barrera hematoencefàlica, mentre que GLUT3 controlaria el transport de glucosa a les cèl·lules neuronals. Les propietats cinètiques de GLUT1 i GLUT3 són compatibles amb aquest model. Quan GLUT3 s'expressa en oòcits de *Xenopus*, la K_m pel transport de glucosa és força més baixa que la de GLUT1, el transportador de la barrera hematoencefàlica (Gould *et al.*, 1991; Colville *et al.*, 1993). Aquesta K_m baixa podria representar una adaptació a les baixes concentracions de glucosa que hi ha als fluids extracel·lulars del cervell comparades amb les del plasma. Per tant, l'elevada afinitat de GLUT3 pels sucres asseguraria la captació eficient de glucosa a les cèl·lules neuronals fins i tot a concentracions baixes de glucosa. GLUT3 té la K_m per a les hexoses més baixa de tots els transportadors de glucosa de difusió facili-

tada caracteritzats fins al moment (Gould *et al.*, 1991; Pessin i Bell, 1992).

GLUT4

El 1989, cinc grups de recerca clonaren independentment aquest transportador de glucosa a partir de biblioteques de cDNA procedents d'adipòcits i múscul esquelètic humà, de rata i de ratolí utilitzant la sonda de cDNA de GLUT1 en condicions de baixa astringència (Fukumoto *et al.*, 1989; Birnbaum, 1989; James *et al.*, 1989b; Charron *et al.*, 1989; Kaestner *et al.*, 1989). Aquest transportador només s'expressa en teixit adipós blanc i marró, múscul esquelètic i múscul cardíac.

El GLUT4 humà presenta una identitat de seqüència del 65 %, 54 % i 58 % amb les seqüències de GLUT1, GLUT2 i GLUT3, respectivament. Les divergències més grans entre les seqüències es detecten en l'extrem NH₂- i COOH-terminal i en el segment citoplasmàtic que uneix els dominis M6 i M7 (Bell *et al.*, 1990). Aquest transportador està constituït per 509 (rata i humà) i 510 (ratolí) residus aminoacídics i la seva seqüència està altament conservada entre diferents espècies.

Una característica única del transportador GLUT4 és que en condicions basals, presenta una localització intracel·lular. Moltes aproximacions experimentals han permès relacionar l'increment de la captació de glucosa en resposta a la insulina amb la translocació d'aquest transportador des de la seva localització intracel·lular a la membrana plasmàtica (Birnbaum, 1989; James *et al.*, 1989b). Aquesta informació permet proposar que GLUT4 és el transportador responsable de la captació de glucosa estimulada per la insulina. Més endavant explicarem, d'una manera més detallada, aquests processos.

L'expressió de GLUT4 està altament regulada. En el teixit adipós marró, el múscul esquelètic i el cor de rata, GLUT4 s'expressa en baixos nivells durant la vida fetal, i al llarg del desenvolupament perinatal s'observa una inducció de l'expressió d'aquest transportador (Santalucía *et al.*, 1992). La inducció de GLUT4 en el teixit muscular sembla que depèn *in vivo*, almenys, de dos factors diferents; les hormones tiroïdals i la innervació (Castelló *et al.*, 1993, 1994). La resistència a la insulina que apareix en els teixits sensibles a la insulina en determinades situacions de diabetis i obesitat també s'ha relacionat amb una disminució en l'expressió de GLUT4 i/o un ineficient procés de translocació de GLUT4 a la membrana plasmàtica en resposta a la insulina (Camps *et al.*, 1992; Gumà *et al.*, 1992; Kahn, 1992). Estudis realitzats amb el promotor de gen de GLUT4 han determinat que la distribució tissular de GLUT4 ve donada per algun(s) element(s) del promotor situats en les 2,4 kb anteriors a l'inici de transcripció (Olson *et al.*, 1993).

GLUT5

El cDNA de GLUT5 es va aïllar a partir d'una biblioteca d'intestí prim humà (Kayano *et al.*, 1990). La seqüència deduïda de GLUT5 té 501 aminoàcids i és la més divergent de tots els transportadors de glucosa: en humans presenta entre un 39 % i un 40 % d'identitat amb les altres isoformes de transportadors caracteritzades (Kayano *et al.*, 1990). GLUT5 s'expressa majoritàriament al jejú, de tota manera el seu mRNA s'ha detectat en humans al ronyó, al múscul esquelètic i al teixit adipós (Kayano *et al.*, 1990; Hundal *et al.*, 1992; Shepherd *et al.*, 1992).

Recentment dos grups de manera independent han clonat el GLUT5 de rata (Rand *et al.*, 1993; Inukai *et al.*, 1993), a partir d'una

biblioteca de cDNA de jejú. Aquest transportador presenta un 81,5 % d'identitat amb la isoforma humana. Estudis d'expressió en oòcits de *Xenopus* mostren que el GLUT5 de rata transporta fructosa i glucosa. El transport de fructosa s'inhibeix per glucosa, a diferència del que s'ha descrit pel GLUT5 humà (Rand *et al.*, 1993).

Els estudis immunohistoquímics han localitzat la proteïna GLUT5 a la membrana apical dels enteròcits (Davidson *et al.*, 1992). Aquests resultats han estat confirmats mitjançant la realització de *Western blots* amb membranes *brush-border* purificades a partir de jejú humà (Davidson *et al.*, 1992). Aquesta localització es justifica assignant a GLUT5 un paper en l'absorció intestinal de glucosa quan les concentracions d'aquest substrat al lumen de l'intestí són altes o assumint que el substrat natural d'aquest transportador no era la glucosa.

Posteriorment quan s'ha expressat el GLUT5 humà en oòcits de *Xenopus*, s'ha demostrat que GLUT5 és un transportador amb alta afinitat per a la fructosa i aparentment amb baixa afinitat per a la glucosa (Burant *et al.*, 1992). A més, el transport de fructosa no s'inhibeix per D-glucosa ni per citocalasina B. La K_m per a la captació de fructosa en cèl·lules injectades amb l'mRNA de GLUT5 és de 6 mM (Burant *et al.*, 1992). Així doncs, podria ser que el paper principal de GLUT5 a la superfície luminal de l'intestí prim fos la captació de la fructosa de la dieta. De fet, GLUT2, una altra isoforma dels transportadors de glucosa de difusió facilitada, també transporta fructosa quan s'expressa en oòcits de *Xenopus* (Gould *et al.*, 1991) i la seva localització es restringeix a la membrana basolateral de les cèl·lules absortives de l'intestí prim (Thorens *et al.*, 1990). Per tant, GLUT5 podria ser el transportador responsable de la captació de fructosa procedent del lumen de l'intestí prim, i GLUT2, present a la membrana basolateral dels enterò-

cits, podria mediar la sortida de fructosa des de les cèl·lules absortives cap als vasos sanguinis.

GLUT5 també s'expressa abundantment en els testicles i espermatozoides humans; estudis d'immunofluorescència el localitzen a la membrana plasmàtica de les espermàtides madures i dels espermatozoides (Burant *et al.*, 1992). Curiosament, els espermatozoides humans utilitzen fructosa, la captació d'aquest substrat té una K_m similar a la de GLUT5 i no és inhibida per citocalasina B. Així, sembla que GLUT5 podria mediar el transport de fructosa en aquests tipus cel·lulars.

Com ja hem comentat, els estudis d'*immunoblot* han demostrat que GLUT5 s'expressa també en els teixits sensibles a la insulina d'humans (diferents tipus de múscul esquelètic: *soleus*, *rectus abdominus*, *psaos major* i *vastus lateralis*, cor, i teixit adipós) (Shepherd *et al.*, 1992). En adipòcits, GLUT5 no es transloca en resposta a la insulina (Shepherd *et al.*, 1992). Aquests resultats són coherents amb la manca de sensibilitat a la insulina que presenta el transport de fructosa en els adipòcits humans. Hundal *et al.* (1992) han aportat evidències que indiquen que GLUT5 es localitza específicament a la membrana plasmàtica del múscul *gracilis* d'humans. Ja que s'ha descrit que el múscul esquelètic humà capta fructosa de la sang (Ahlborg i Bjorkman, 1990), GLUT5 podria ser el responsable d'aquesta activitat de transport.

El patró d'expressió de GLUT5 a la rata és diferent del d'humans i només s'ha detectat GLUT5 a l'intestí, al cervell i al ronyó (Rand *et al.*, 1993). No s'ha detectat l'mRNA de GLUT5 en testicles, múscul ni teixit adipós de rata, teixits que en humans expressen GLUT5 (Rand *et al.*, 1993; Inukai *et al.*, 1993). En el cas de la rata, l'expressió de GLUT5 a l'intestí presenta ritmes circadianis i es regula durant el desenvolupament perinatal de

manera dependent de la dieta (Castelló *et al.*, 1995). Els estudis d'hibridació *in situ* de l'expressió de l'mRNA de GLUT5 a l'intestí prim de rata indiquen que hi ha una expressió diferencial al llarg de l'eix cripta-vellositat; els nivells més alts de l'mRNA de GLUT5 es donen entre la part baixa i mitjana de la vellositat; la hibridació és més dèbil a la punta de la vellositat i en el lloc d'unió de la vellositat amb la cripta (Rand *et al.*, 1993). Així doncs, sembla que la transcripció d'aquest gen començaria quan les cèl·lules emergeixen de la cripta i continuaria fins que arriben a la meitat de la vellositat.

GLUT7

La regulació dels nivells circulants de glucosa en els mamífers durant l'estat post-absortiu s'assoleix fent un balanç entre la taxa de captació de glucosa pels diferents teixits i l'alliberament d'aquest substrat per part del fetge. El paper de GLUT2 en l'eflux i influx de glucosa al fetge ja s'ha comentat anteriorment. De tota manera, es fa necessària una altra activitat de transport de glucosa per al lliurament hepàtic de glucosa. Atès que el darrer pas en la producció de glucosa, sigui per glicogenòlisi o per gluconeogènesi, es dona al lumen del reticle endoplasmàtic, catalitzat per la glucosa 6-fosfatasa, cal que aquesta glucosa travessi la membrana del reticle endoplasmàtic per tal d'arribar al citosol.

L'any 1992 es va clonar el transportador de glucosa anomenat GLUT7 a partir d'una biblioteca de cDNA de fetge de rata (Waddell *et al.*, 1992): es tracta d'una proteïna de 528 residus amb una identitat de seqüència amb GLUT2 d'un 68 %.

Els estudis de *Western blot* han confirmat que GLUT7 s'expressa en una fracció microsomal de fetge lliure de marcadors de membrana plasmàtica (Waddell *et al.*, 1992).

En expressar GLUT7 a cèl·lules COS, també s'ha confirmat aquesta localització (Waddell *et al.*, 1992). Sembla que aquesta localització tan restringida podria aconseguir-se gràcies a la presència d'un motiu de retenció en el reticle endoplasmàtic, K-K-X-K-X-X, a la regió C-terminal de la proteïna (Waddell *et al.*, 1992). GLUT7, per tant, podria transportar glucosa des del lumen del reticle endoplasmàtic al citosol, per a la seva eventual sortida dels hepatòcits via el transportador de la membrana plasmàtica, GLUT2.

EL TRANSPORT DE GLUCOSA EN TEIXITS SENSIBLES A LA INSULINA. EFECTE DE LA INSULINA SOBRE LA DISTRIBUCIÓ DELS TRANSPORTADORS DE GLUCOSA

La insulina estimula de forma ràpida el transport de glucosa en el teixit adipòs (blanc i marró), en el múscul esquelètic i el cor, teixits definits per aquesta raó en aquesta revisió com a teixits sensibles a la insulina. El ràpid increment de la captació de glucosa en aquests teixits és un procés que participa de forma molt important en el manteniment de l'homeostasi de la glucosa. En estat absorptiu, la insulina promou la deposició del 70-90 % de la glucosa present a la sang en forma de glicògen en teixits musculars (Baron *et al.*, 1988) i en forma de triacilglicèrids en teixit adipòs.

Els teixits sensibles a la insulina expressen dues isoformes del transportador de glucosa: GLUT1 i GLUT4, i de les dues GLUT4 és la isoforma més abundant (Birnbaum, 1989; Charron *et al.*, 1989; Fukumoto *et al.*, 1989; James *et al.*, 1989b). Així, GLUT4 representa el 85-90 % del total de transportadors de glucosa presents en adipòcits (Zorzano *et al.*, 1989; Calderhead *et al.*, 1990b) i en múscul esquelètic (Marette *et al.*, 1992b; Klip i Marette, 1992).

Estudis inicials, realitzats en diferents models experimentals, varen demostrar que l'efecte de la insulina sobre la captació de glucosa es produïa en absència de canvis importants en la K_m per a la glucosa i com a conseqüència d'un notable increment en la V_{\max} del transport (Narahara i Özand, 1963). Posteriorment, utilitzant tècniques de fraccionament subcel·lular (Cushman i Wardzala, 1980; Suzuki i Kono, 1980; Hirshman *et al.*, 1990), estudis immunocitoquímics (Slot *et al.*, 1991; Smith *et al.*, 1991) i mitjançant tècniques experimentals que permeten el fotomarcatge dels transportadors de glucosa de la superfície cel·lular utilitzant anàlegs de glucosa no permeables (Holman *et al.*, 1990), s'ha demostrat que l'increment de la V_{\max} del transport es produeix com a conseqüència de la translocació dels transportadors de glucosa localitzats intracel·lularment a la membrana plasmàtica en resposta a la insulina. Aquest procés és independent de la síntesi proteica (Karnieli *et al.*, 1981), i tant el procés de translocació cap a la membrana plasmàtica com la internalització dels transportadors de glucosa (situats a la superfície cel·lular), que es produeix després de l'eliminació de l'hormona del medi de cultiu, són processos dependents d'ATP (Kono *et al.*, 1982).

A partir de la clonació de GLUT4 (Fukumoto *et al.*, 1989; Birnbaum, 1989; James *et al.*, 1989b; Charron *et al.*, 1989; Kaestner *et al.*, 1989) i l'obtenció d'anticossos específics contra aquesta isoforma (James *et al.*, 1988), ha estat possible caracteritzar l'acció de la insulina, específicament sobre cadascun dels transportadors (GLUT1 i GLUT4), i associar a GLUT4 com el transportador responsable de la captació de glucosa estimulada per la insulina. Així, en adipòcits de rata, i utilitzant tècniques de fraccionament subcel·lular, s'ha descrit que en estat basal GLUT1 és el transportador més abundant present a la membrana plasmàtica, mentre que GLUT4

es localitza quasi exclusivament a l'interior cel·lular. La insulina promou la translocació de GLUT1 i de GLUT4 des d'una localització intracel·lular a la membrana plasmàtica. No obstant això, la translocació de GLUT4 és quantitativament molt més important que la de GLUT1 (Zorzano *et al.*, 1989).

Resultats semblants s'han obtingut en la línia cel·lular d'adipòcits de ratolí 3T3. En estat basal aquestes cèl·lules presenten un elevat contingut de GLUT1 a la superfície cel·lular. A diferència del que s'ha descrit en adipòcits de rata (Zorzano *et al.*, 1989), en adipòcits 3T3 hi ha també un important reservori de GLUT1 intracel·lular (Piper *et al.*, 1991). GLUT4 es localitza quasi exclusivament en vesícules intracel·lulars i la insulina incrementa tant la concentració de GLUT1 com la de GLUT4 a la membrana plasmàtica (Piper *et al.*, 1991).

Totes aquestes evidències permeten associar la captació de glucosa estimulada per la insulina amb el reclutament de GLUT4 a la membrana de la superfície cel·lular. No obstant això, hi ha discrepàncies pel que fa al percentatge d'estimulació del transport d'hexoses i el nombre de vegades que s'incrementa la presència de GLUT4 en la superfície cel·lular per efecte de la insulina. Aquestes diferències es podrien atribuir, almenys en part, a la possible contaminació de les fraccions de membrana plasmàtica amb vesícules intracel·lulars que contenen GLUT4.

Mitjançant estudis d'immunolocalització realitzats en teixit adipòs marró, Slot i els seus col·laboradors (1991) han demostrat que, en condicions basals, el 99% del GLUT4 es localitza a l'interior dels adipòcits i es troba associat a elements tubovesiculars propers a la membrana plasmàtica (44% del marcatge total) i en estructures membranoses properes al reticle de trans-Golgi (49% del marcatge total). Després de l'administració d'insulina *in vivo* s'observa un impor-

tant increment del marcatge de GLUT4 a la membrana plasmàtica. En aquesta situació, aproximadament el 40% del GLUT4 es localitza en la superfície cel·lular i en paral·lel s'aprecia una disminució del marcatge en ambdues localitzacions intracel·lulars (Slot *et al.*, 1991). Aquests resultats, que quantitativament coincideixen amb el grau d'estimulació del transport de glucosa, permeten associar la translocació de GLUT4 com el mecanisme principal pel qual la insulina estimula la captació de glucosa.

En presència d'insulina, GLUT4 es detecta en depressions de la membrana plasmàtica (*coated pits*) i vesícules recobertes de clatrina. En aquestes condicions, GLUT4 també sembla que s'associa a endosomes primaris, tal com s'ha detectat mitjançant la utilització de doble marcatge de GLUT4 i albúmina. Aquestes observacions han permès postular un model segons el qual GLUT4 reciclaria des de la membrana de superfície cap a l'interior cel·lular en presència de la insulina, a través d'una via de reciclatge comparable a la descrita pels receptors de superfície cel·lular (Slot *et al.*, 1991). La internalització de GLUT4 en presència d'insulina permet postular que l'efecte més important de la hormona sobre la translocació de GLUT4 seria el de potenciar l'exocitosi del transportador més que un efecte associat a la inhibició de l'endocitosi de GLUT4 (Slot *et al.*, 1991).

Pel que fa al múscul esquelètic, estudis de fraccionament subcel·lular indiquen que en estat basal la major part de GLUT1 es localitza a la superfície cel·lular, concretament a la membrana de sarcolemma (Zorzano *et al.*, 1995), mentre que GLUT4 és majoritàriament intracel·lular. Malgrat això, el GLUT4 localitzat a la superfície cel·lular es detecta tant al sarcolemma com en túbuls transversos (Muñoz *et al.*, 1995). L'administració d'insulina *in vivo* produeix la translocació de GLUT4 des d'un compartiment

intracel·lular al sarcolemma i al túbul T (Figura 2). De manera concomitant, la insulina també provoca la redistribució dels receptors de la insulina: així la presència de receptors d'insulina disminueix tant al sarcolemma com al túbul T i augmenta en compartiments intracel·lulars d'alta densitat (Muñoz i col·laboradors, resultats no publicats).

MECANISMES MOLECULARS IMPLICATS EN LA DISTRIBUCIÓ INTRACEL·LULAR DE GLUT4 EN ESTAT BASAL

Ja s'ha comentat que en condicions basals (és a dir, en presència de baixos nivells circulants d'insulina), GLUT1 i GLUT4 presenten una diferent distribució subcel·lular en teixits sensibles a la insulina. Així, mentre que GLUT4 es localitza quasi exclusivament a l'interior de la cèl·lula, GLUT1 es localitza a la membrana plasmàtica.

Una pregunta especialment rellevant en aquest context, és si els mecanismes implicats en la retenció intracel·lular de GLUT4 són específics dels teixits sensibles a la insulina. Una estratègia que ha permès abordar aquesta qüestió sobre l'existència d'especificitat tissular quant als mecanismes implicats en la diferent distribució subcel·lular de GLUT1 i GLUT4, ha estat la transfecció d'aquests transportadors en diferents sistemes cel·lulars. Seguint aquesta aproximació s'ha demostrat que quan GLUT4 s'expressa en fibroblasts 3T3-L1 i NIH-3T3 (Haney *et al.*, 1991; Hudson *et al.*, 1992), en oòcits (Thomas *et al.*, 1993; Mora *et al.*, 1995), en cèl·lules CHO procedents d'ovari de hamster xinès (Shibasaki *et al.*, 1992; Asano *et al.*, 1992), en cèl·lules HepG2 procedents d'hepatoma humà (Haney *et al.*, 1991) i en la línia cel·lular C2C12 derivada de múscul esquelètic (Kotliar i Pilch, 1992), GLUT4 presenta una localització quasi exclusivament

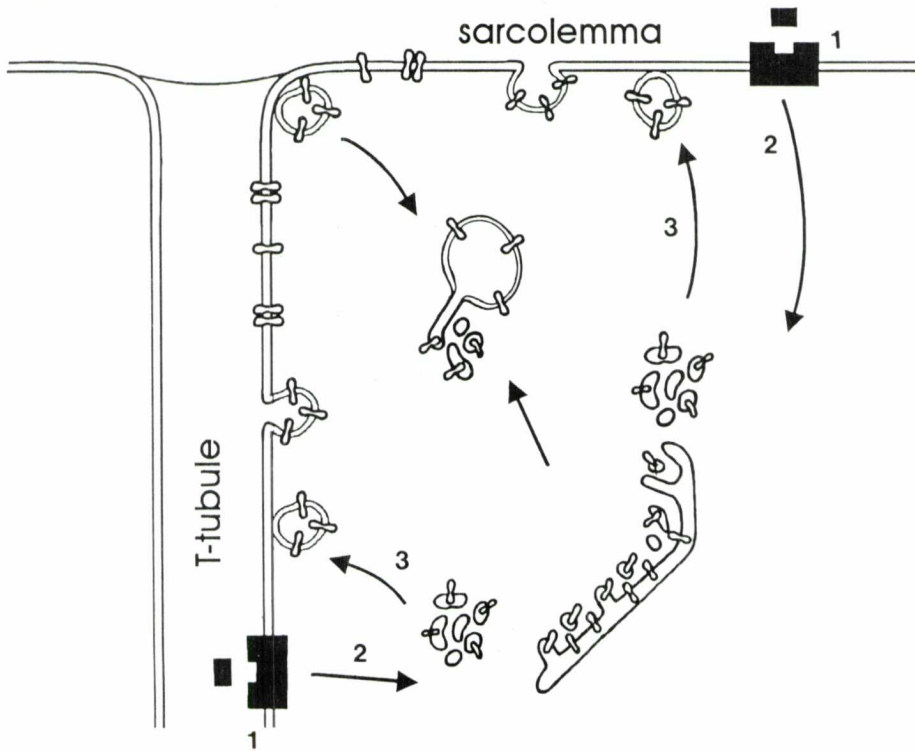


FIGURA 2. Esquema hipotètic de la translocació de GLUT4 induïda per la insulina a la fibra muscular. GLUT4, \bigcirc ; receptors de la insulina, ■ ; insulina, \blacksquare .

La insulina s'uneix als seus receptors presents tant al sarcolemma com als túbuls transversos (1) la qual cosa dispara el senyal de la insulina (2). Com a conseqüència, la insulina promou la translocació de GLUT4 des d'un compartiment intracel·lular al sarcolemma i al túbul T (3). Tant en condicions basals com després de l'estimulació amb insulina, els transportadors GLUT4 són internalitzats des de diferents dominis de la superfície cel·lular.

intracel·lular. Estudis immunocitoquímics han demostrat que en aquestes cèl·lules transfectades, la proteïna GLUT4 es troba associada a estructures tubulovesiculars properes al reticle de trans-Golgi, seguint una distribució força similar a la descrita en teixit adipòs o en múscul. A més, les vesícules intracel·lulars que contenen GLUT4 presenten característiques bioquímiques i morfològiques semblants a les descrites en el compartiment intracel·lular d'adipòcits que conté GLUT4 (Haney *et al.*, 1991; Hudson *et al.*, 1992).

Al contrari, quan el transportador GLUT1 humà és sobreexpressat en diferents sistemes cel·lulars, es localitza majoritàriament a

la membrana plasmàtica de les cèl·lules transfectades. Aquest fet es corrobora per l'augmentada captació basal de glucosa que presenten les cèl·lules transfectades respecte a les cèl·lules parentals (Shibasaki *et al.*, 1992; Hudson *et al.*, 1992).

Aquest conjunt de resultats demostra que GLUT1 i GLUT4 presenten una distribució subcel·lular específica que és independent del tipus cel·lular on s'expressen. Per tant, la informació necessària per a l'eficient retenció intracel·lular de GLUT4 sembla que és una característica intrínseca i probablement continguda en la seqüència primària del transportador. Aquest motiu putatiu de retenció intracel·lular és reconegut de manera

general per molts tipus cel·lulars diferents (Haney *et al.*, 1991; Hudson *et al.*, 1992; Shibasaki *et al.*, 1992; Asano *et al.*, 1992; Mora *et al.*, 1995).

Cal destacar però que, malgrat que la localització intracel·lular de GLUT4 en cèl·lules transfectades és aparentment correcta, el tractament amb insulina no sempre promou la translocació de GLUT4 cap a la membrana plasmàtica. Així, la insulina promou la translocació de GLUT4 en oòcits de *Xenopus* transfectats amb GLUT4 (Mora *et al.*, 1995) però no promou la translocació de GLUT4 ni en línies cel·lulars HepG2 o C2C12 on s'expressen normalment receptors d'insulina, ni en fibroblasts NHI-3T3 que sobreexpressen receptors d'insulina (Hudson *et al.*, 1992; Haney *et al.*, 1991; Kotliar i Pilch, 1992). Per tant, la informació necessària per a l'eficient translocació de GLUT4 a la membrana plasmàtica en resposta a la insulina, no sembla que sigui una característica intrínseca del transportador, sinó que es requereix la presència d'altres factors, a més del receptor de la insulina, que no s'expressen en tots els tipus cel·lulars.

Totes les evidències descrites anteriorment suggereixen la presència, en l'estructura primària de GLUT4, d'un motiu de retenció intracel·lular que podria ser reconegut per una maquinària cel·lular ubíqua. Si es comparen les seqüències d'aminoàcids de GLUT1 i GLUT4 s'observa que els dominis NH₂-i COOH-terminals i el *loop* intracel·lular entre els dominis de transmembrana 6 i 7, són les regions on es localitzen les divergències més grans entre ambdues isoformes. Diferents grups de recerca han intentat localitzar els possibles senyals de retenció intracel·lular presents a GLUT4, a través de l'estudi de la distribució subcel·lular que presenten proteïnes quimèriques formades per la substitució de determinats dominis de GLUT4 en la seqüència de GLUT1 i/o viceversa.

En estudis inicials, Piper *et al.* (1992) demostraren, per transfecció transitòria en cèl·lules CHO amb construccions quimèriques formades per diferents dominis de GLUT1 i de GLUT4, que la regió NH₂-terminal de GLUT4 era necessària i suficient per a la seva internalització (Piper *et al.*, 1992). Posteriorment, s'ha identificat el motiu FQQI, situat en els vuit primers aminoàcids de la regió NH₂-terminal, com un motiu implicat en l'endocitosi de GLUT4 mitjançant depressions de la membrana recobertes de clatrina (*coated pits*). Dintre d'aquesta seqüència, el residu Phe en posició 5 sembla que té un paper fonamental en la reorganització del GLUT4 present a la superfície cel·lular en dominis de la membrana plasmàtica enriquits en clatrina (Piper *et al.*, 1993b). Així, la substitució del residu Phe per Ala provoca l'increment de GLUT4 en la superfície cel·lular i la disminució en depressions recobertes per clatrina (Piper *et al.*, 1993b). El motiu FQQI presenta homologia amb els motius d'internalització descrits en els dominis citoplasmàtics de diferents receptors de membrana, com són el receptor de manosa-6-fosfat/IGF II, el receptor de transferrina i el receptor de LDL. Aquest motiu podria estar implicat en l'associació d'aquests receptors amb estructures de clatrina a la membrana plasmàtica (Pearse i Robinson, 1990). Tanmateix, quan el domini NH₂-terminal de GLUT4 és incorporat a proteïnes com ara la subunitat H1 del receptor de les asialoglicoproteïnes o el receptor de transferrina, aquestes proteïnes mostren un *targeting* intracel·lular semblant al descrit per GLUT4 (Piper *et al.*, 1993b; Garippa *et al.*, 1994).

Altres investigadors han suggerit que el domini responsable de la distribució intracel·lular de GLUT4 es trobaria en dues regions situades entre els dominis de transmembrana 2 i 3 i en el domini de transmembrana 8, juntament amb el segment exofacial que comunica els dominis trans-

membrana 7 i 8 i aquest darrer és clau en la localització intracel·lular de GLUT4 (Asano *et al.*, 1992). No obstant això, aquestes regions transmembrana estan molt conservades entre les diferents isoformes de transportadors de glucosa, per la qual cosa es fa difícil explicar la distribució única de GLUT4.

Recentment, tres grups independents han demostrat mitjançant l'expressió de proteïnes quimèriques GLUT1/GLUT4, que la regió citoplasmàtica COOH-terminal incorpora seqüències que determinen la retenció intracel·lular de GLUT4 (Czech *et al.*, 1993; Verhey *et al.*, 1993; Marshall *et al.*, 1993a). El motiu format per dos residus de Leu localitzats en posició 489/490 sembla que té un important paper en la localització intracel·lular de GLUT4 (Verhey i Birnbaum, 1994). Motius dileucina semblants, s'han implicat en la regulació de la distribució del receptor de manosa-6-fosfat/IGF II des del reticle de Golgi fins al sistema endosomal/lisosomal (Chen *et al.*, 1993), així com en la localització intracel·lular de la subunitat CD3 del receptor d'antigen de les cèl·lules-T (Letourneur i Klausner, 1992). Verhey *et al.* (1994) i Corvera *et al.* (1994) han postulat que el motiu dileucina present en GLUT4 podria contribuir a la regulació de la distribució intracel·lular de GLUT4 ja que actuaria com un senyal que promou la ràpida endocitosi del transportador des de la membrana plasmàtica cap a una localització intracel·lular a través de vesícules recobertes de clatrina. Aquest model òbviament entra en controvèrsia amb la hipòtesi del motiu FQQI de l'extrem N-terminal. Aquestes discrepàncies relatives als dominis específics implicats en la localització intracel·lular de GLUT4, podrien ser degudes als diferents sistemes de transfecció emprats, o bé al diferent grau d'expressió de les diferents quimeres assolit. Així, la sobreexpressió de la proteïna transportadora podria saturar la seva via de trànsit intracel·lular i provocaria la

utilització de vies de trànsit alternatives, no utilitzades en condicions normals. Altres raonaments es basen en la possibilitat que diferents dominis de GLUT4 col·laborin en la formació d'un senyal de *targeting*, a causa de la seva proximitat en la conformació nativa de la proteïna, o bé que siguin necessaris diferents senyals de *targeting* per tal d'obtenir la distribució intracel·lular de GLUT4 característica de l'estat estacionari.

CARACTERITZACIÓ DE LES VESÍCULES INTRACEL·LULARS QUE CONTENEN GLUT4

Com hem comentat anteriorment, els estudis en els quals s'ha transfectat GLUT4 en diferents tipus cel·lulars que contenen receptor d'insulina han mostrat que no sempre es mimetitzava la resposta a l'hormona incrementant el transport de glucosa. Aquest fet suggereix que en els teixits sensibles a la insulina s'expressen diferents proteïnes, encara no identificades, que són necessàries perquè es doni aquest fenomen. Una línia de pensament ha postulat que part d'aquestes proteïnes s'haurien de localitzar en les vesícules intracel·lulars que contenen GLUT4, i realitzarien diferents possibles funcions, com per exemple, la recepció d'un senyal intracel·lular provinent del receptor d'insulina o la participació en el trànsit vesicular. Partint d'aquesta idea, s'han realitzat anàlisis de la composició d'aquestes vesícules intracel·lulars per tal d'entendre com es formen i com la insulina n'estimula la translocació i la fusió amb la membrana plasmàtica.

Fins al moment, tots els resultats indiquen que el GLUT4 intracel·lular no col·localitza ni amb proteïnes marcadores del reticle de trans-Golgi (Martin *et al.*, 1994; Zorzano *et al.*, 1995) ni amb el receptor de manosa-6-fosfat/IGF-II (Zorzano *et al.*, 1989). Aquestes dades suggereixen que una vega-

da GLUT4 és internalitzat, se segrega de la via endocítica i tampoc no sembla que s'associï ni amb endosomes tardans (*late endosomes*) ni amb el reticle de trans-Golgi. Entre les proteïnes detectades fins al moment que colocalitzen amb GLUT4 intracel·lular hi ha una activitat fosfatidilinositol-4-quinasa (Del Vecchio i Pilch, 1991). Aquesta proteïna no sembla que sigui exclusiva de les vesícules intracel·lulars i s'ha postulat que aquesta activitat podria conferir les propietats fusogèniques necessàries per a originar el moviment de membranes entre les vesícules intracel·lulars i la membrana plasmàtica.

El procés de translocació de GLUT4 cap a la superfície cel·lular recorda un procés d'exocitosi regulada, comparable al que es dona en les cèl·lules secretores. En aquest sentit, s'ha detectat que unes proteïnes característiques de les vesícules sinàptiques, les sinaptobrevines o VAMP (*vesicle associated membrane protein*), es troben a les vesícules intracel·lulars d'adipòcits que contenen GLUT4 (Cain *et al.*, 1992). A més a més, per efecte de la insulina, aquestes VAMP es transloquen també cap a la membrana plasmàtica. Més recentment, una altra proteïna de la família de les VAMP, la cel·lubrevina, també s'ha descrit associada a les vesícules intracel·lulars que contenen GLUT4 (Volchuk *et al.*, 1995). Es pensa que aquestes proteïnes podrien tenir un paper fonamental en el procés pel qual les vesícules intracel·lulars reconeixen la cara interna de la membrana plasmàtica i s'hi fusionen.

Durant els últims anys s'ha caracteritzat un nou tipus de proteïnes associades a les vesícules secretores, les SCAMP (*secretory component-associated membrane proteins*) (Brand *et al.*, 1991; Brand i Castle, 1993). Aquestes proteïnes, de 35-40 kD, es troben en molts tipus cel·lulars independentment de quina sigui la seva especialització per a la secreció regulada. Les SCAMP es localitzen en membranes (vesícules endocítiques o se-

cretores) que es mouen cap a la superfície cel·lular i des d'aquesta i per tant constitueixen marcadors dels sistemes generals de reciclatge. En cèl·lules adiposes, s'ha determinat que GLUT4 i VAMP colocalitzen amb les SCAMP (Thoidis *et al.*, 1993; Laurie *et al.*, 1993). A més, en presència d'insulina, hi ha una segregació parcial de GLUT4 i SCAMP, ja que només es transloquen per efecte de l'hormona un 10 % de les SCAMP intracel·lulars. Aquest resultat s'ha interpretat com que les SCAMP s'internalitzen més ràpidament que GLUT4 i queden retingudes a les membranes intracel·lulars (Laurie *et al.*, 1993).

Diferents proteïnes G de baix pes molecular (20-30 kD), que pertanyen a la superfamília *ras*, han estat implicades en la regulació del trànsit cel·lular de membranes. Entre aquestes, les proteïnes *rab* (*Ras-like proteins from rat brain*) i les ARF (*ADP ribosylation factor*) semblen crítiques per a la regulació de la via endocítica i exocítica. Cada proteïna d'aquestes famílies identificades té una localització subcel·lular diferent i alhora cada organel implicat en els processos endocítics o exocítics presenta com a mínim una proteïna G específica a la seva superfície. Els gens *rab* i *ARF* codifiquen proteïnes citosòliques i són necessàries modificacions posttraduccionals per a que siguin actives i es puguin associar als diferents organel·ls. Fins al moment s'ha demostrat que les proteïnes *rab* estan implicades tant en la formació de vesícules com en el *targeting* d'aquestes i la seva fusió (Pfeffer, 1992). Dades recents suggereixen un possible paper de les proteïnes G de baix pes molecular en el procés de translocació de GLUT4. Així, l'anàleg no hidrolitzable de GTP, GTP-g-S, promou la translocació de GLUT4 i el metabolisme de glucosa en adipòcits (Baldini *et al.*, 1991) i en cèl·lules 3T3 (Robinson *et al.*, 1992). Per altra banda, els adipòcits expressen diferents tipus de proteïnes G de baix pes molecular, i

concretament *rab4* colocalitza amb les vesícules que contenen GLUT4 (Cormont *et al.*, 1991, 1993). En el múscul esquelètic també s'ha detectat la presència de proteïnes G de baix pes molecular en fraccions de membranes intracel·lulars; a més, aquestes proteïnes es transloquen en resposta a la insulina i a la contracció muscular de manera similar a la translocació de GLUT4 (Etgen *et al.*, 1993).

Finalment, s'ha identificat una nova proteïna integral de membrana, la proteïna gp160, que sembla que és un component majoritari de les vesícules intracel·lulars que contenen GLUT4 procedents d'adipòcits (Kandror i Pilch, 1990a; Mastick *et al.*, 1994). Aquesta proteïna recicla constantment entre el compartiment intracel·lular i la membrana plasmàtica (Kandror i Pilch, 1994a) i la insulina provoca la translocació des de les membranes intracel·lulars a la membrana plasmàtica de manera quantitativament similar a GLUT4 (Kandror i Pilch, 1990b; Mastick *et al.*, 1994). La proteïna gp160 presenta activitat aminopeptidasa (Kandror *et al.*, 1994). Atès que també s'ha detectat la presència d'activitat aminopeptidasa en vesícules intracel·lulars que contenen canals d'aigua regulables per l'hormona anti-diurètica en cèl·lules epitelials de ronyó (Harris *et al.*, 1994), s'ha proposat que l'activitat aminopeptidasa podria tenir un paper específic en la redistribució de vesícules intracel·lulars en resposta a hormones.

AGRAÏMENTS

Aquest treball ha estat finançat gràcies a ajuts de la Direcció General de la Investigació Científica y Técnica (PB92/0805), Fondo de Investigaciones Sanitarias (94/0302) i Direcció General de Recerca (GRQ94-1040).

BIBLIOGRAFIA

- AHLBORG, G.; O. BJORKMAN (1990). «Splanchnic and muscle fructose metabolism during and after exercise». *J. Appl. Physiol.*, núm. 69, pàg. 1244-1251.
- ANDERSSON, L.; P. LUNDAHL (1988). «C-Terminal-Specific Monoclonal-Antibodies Against the Human Red-Cell Glucose Transporter - Epitope Localization with Synthetic Peptides». *J. Biol. Chem.*, núm. 263, pàg. 1414-1420.
- ASANO, T.; Y. SHIBASAKI; M. KASUGA; Y. KANAZAWA; F. TAKAKU; Y. AKANUMA; Y. OKA (1988). «Cloning of a Rabbit Brain Glucose Transporter cDNA and Alteration of Glucose Transporter Messenger-RNA During Tissue-Development». *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, núm. 154, pàg. 1204-1211.
- ASANO, T.; K. TAKATA; H. KATAGIRI; K. TSUKUDA; L. JIANN-LIANG; H. ISHIHARA; K. INUKAI; H. HIRANO; Y. YAZAKI; Y. OKA (1992). «Domains Responsible for the Differential Targeting of Glucose Transporter Isoforms». *J. Biol. Chem.*, núm. 267, pàg. 19636-19641.
- AXELROD, J. D.; P. F. PILCH (1983). «Unique cytochalasin B binding characteristics of the hepatic glucose carrier». *Biochem.*, núm. 22, pàg. 2222-2227.
- BAGLEY, P. R.; V. J. CUNNINGHAM; J. E. CREMER; A. DAVIES; J. G. LINDSAY; S. A. BALDWIN; C. NOLAN; S. P. TUCKER (1989). «Anatomical Mapping of Glucose Transporter Protein and Pyruvate-Dehydrogenase in Rat-Brain - An Immunogold Study». *Brain Res.*, núm. 499, pàg. 214-224.
- BALDINI, G.; R. HOHMAN; M. J. CHARRON; H. F. LODISH (1991). «Insulin and nonhydrolyzable GTP analogs induce translocation of GLUT 4 to the plasma membrane in alpha-toxin-permeabilized rat adipose cells». *J. Biol. Chem.*, núm. 266, pàg. 4037-4040.
- BARON, A. D.; G. BRECHTEL; P. WALLACE; S. V. EDELANAN (1988). «Rates and tissue sites of non-insulin and insulin-mediated glucose uptake in humans». *Am. J. Physiol.*, núm. 255, pàg. E769-E774.
- BARROS, L. F.; S. A. BALDWIN; S. M. JARVIS; T. COWEN; C. THRASIVOULOU; N. BEAUMONT; D. L. YUDILEVICH (1992). «In Human Placenta the Erythroid Glucose Transporter Glut1 Is Abundant in the Brush-Border and Basal Membranes of the Trophoblast But the Insulin-Dependent Isoform Glut4 Is Absent - Neither Transporter Is Detectable in Endothelial-Cells». *J. Physiol. London*, núm. 446, pàg. P345.
- BELL, G. I.; M. G. BYERS; J. C. MURRAY; Y. NAKAMURA; T. B. SHOWS; Y. S. FAN; R. L. EDDY; T. KAYANO (1989). «Polymorphic Human Insulin-Responsive Glucose-Transporter Gene on Chromosome 17P13». *Diabetes*, núm. 38, pàg. 1072-1075.

- BELL, G. I.; T. KAYANO; J. B. BUSE; C. F. BURANT; J. TAKEDA; D. LIN; H. FUKUMOTO; S. SEINO (1990). «Molecular Biology of Mammalian Glucose Transporters». *Diabetes Care*, núm. 13, pàg. 198-208.
- BIRNBAUM, M. J. (1989). «Identification of a Novel Gene Encoding an Insulin- Responsive Glucose Transporter Protein». *Cell*, núm. 57, pàg. 305-315.
- BIRNBAUM, M. J.; H. C. HASPEL; O. M. ROSEN (1986). «Cloning and Characterization of a cDNA- Encoding the Rat- Brain Glucose-Transporter Protein». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 83, pàg. 5784-5788.
- BRAND, S. H.; J. D. CASTLE (1993). «SCAMP 37, a new marker within the general surface recycling system». *EMBO J.*, núm. 10, pàg. 3753-3761.
- BRAND, S. H.; S. M. LAURIE; M. B. MIXON; J. D. CASTLE (1991). «Secretory Carrier Membrane Proteins 31-35 define a common protein composition among secretory carrier membranes». *J. Biol. Chem.*, núm. 266, pàg. 18949-18957.
- BURANT, C. F.; G. I. BELL (1992). «Mammalian Facilitative Glucose Transporters: Evidence for Similar Substrate Recognition Site in Functionally Monomeric Proteins». *Biochem.*, núm. 31, pàg. 10414-10420.
- BURANT, C. F.; J. TAKEDA; L. E. BROT; G. I. BELL; N. O. DAVIDSON (1992). «Fructose transporter in human spermatozoa and small intestine is GLUT5». *J. Biol. Chem.*, núm. 267, pàg. 14523-14526.
- CAIN, C. C.; W. S. TRIMBLE; G. E. LIENHARD (1992). «Members of the Vamp Family of Synaptic Vesicle Proteins Are Components of Glucose Transporter-Containing Vesicles from Rat Adipocytes». *J. Biol. Chem.*, núm. 267, pàg. 1681-1684.
- CAIRNS, M. T.; J. ÀLVAREZ; S. A. BALDWIN; D. CHAPMAN, A. F. GIBBS; H. R. MORRIS; M. PANICO (1987). «Investigation of the Structure and Function of the Human-Erythrocyte Glucose Transporter by Proteolytic Dissection». *Biochim. Biophys. Acta*, núm. 905, pàg. 295-310.
- CAIRNS, M. T.; S. A. BALDWIN; D. A. ELLIOT; P. R. SCUDDER (1984). «Proteolytic and Chemical Dissection of the Human- Erythrocyte Glucose Transporter». *Biochem. J.*, núm. 221, pàg. 179-188.
- CALDERHEAD, D. M.; K. KITAGAWA; L. I. TANNER; G. D. HOLMAN; G. E. LIENHARD (1990). «Insulin Regulation of the 2 Glucose Transporters in 3T3-L1 Adipocytes». *J. Biol. Chem.*, núm. 265, pàg. 13800-13808.
- CAMPS, M.; A. CASTELLÓ; P. MUÑOZ; M. MONFAR; X. TESTAR; M. PALACÍN; A. ZORZANO (1992). «Effect of Diabetes and Fasting on Glut-4 (Muscle Fat) Glucose-Transporter Expression in Insulin-Sensitive Tissues -Heterogeneous Response in Heart, Red and White Muscle». *Biochem. J.*, núm. 282, pàg. 765-772.
- CAMPS, M.; S. VILARÓ; X. TESTAR; M. PALACÍN; A. ZORZANO (1994). «High and polarized expression of GLUT1 glucose transporters in epithelial cells from mammary gland: Acute down-regulation of GLUT1 carriers by weaning». *Endocrinology*, núm.134, pàg. 924-934.
- CARRUTHERS, A. (1990). «Facilitated Diffusion of Glucose». *Physiol. Rev.*, núm. 70, pàg. 1135-1176.
- CASTELLÓ, A.; J. CADEFEAU; R. CUSSÓ; X. TESTAR; J. E. HESKETH; M. PALACÍN; A. ZORZANO (1993). «Glut-4 and Glut-1 Glucose-Transporter Expression Is Differentially Regulated by Contractile Activity in Skeletal-Muscle». *J. Biol. Chem.*, núm. 268, pàg. 14998-15003.
- CASTELLÓ, A.; A. GUMÀ; L. SEVILLA; M. FURRIOLS; X. TESTAR; M. PALACÍN; A. ZORZANO (1995). «Regulation of GLUT5 gene expression in rat intestinal mucosa: regional distribution, circadian rhythm, perinatal development and effect of diabetes». *Biochem. J.*, núm. 309, pàg. 271-277.
- CASTELLÓ, A.; J. C. RODRÍGUEZ-MANZANEQUE; M. CAMPS; A. PÉREZ-CASTILLO; X. TESTAR; M. PALACÍN; A. SANTOS; A. ZORZANO (1994). «Perinatal hypothyroidism impairs the normal transition of GLUT4 and GLUT1 glucose transporters from fetal to new netal levels in heart and brown adipose tissue. Evidence for tissue-specific regulation of GLUT4 expression by thyroid hormone». *J. Biol. Chem.*, núm. 269, pàg. 5905-5912.
- CHARRON, M. J.; F. C. BROSIUS; S. L. ALPER; H. LODISH (1989). «A glucose transport protein expressed predominantly in insulin-responsive tissues». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 86, pàg. 2535-2539.
- CHEN, H. J.; J. REMMLER; J. C. DELANEY; D. J. MESSNER; P. LOBEL (1993). «Mutational analysis of the cation-independent mannose-6-phosphate/ insulin-like growth factor II receptor». *J. Biol. Chem.*, núm. 268, pàg. 22338-22346.
- CHIN, J. J.; V. CHEN; C. Y. JUNG; E. K. Y. JUNG (1987). «Structural Basis of Human-Erythrocyte Glucose Transporter Function in Proteoliposome Vesicles - Circular-Dichroism Measurements». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 84, pàg. 4113-4116.
- CHIN, J. J.; C. Y. JUNG; E. K. Y. JUNG (1986). «Structural Basis of Human-Erythrocyte Glucose Transporter Function in Reconstituted Vesicles - Alpha-Helix Orientation». *J. Biol. Chem.*, núm. 261, pàg. 7101-7104.
- CIARALDI, T. P.; R. HORUK; S. MATTHAEI (1986). «Biochemical and functional characterization of the rat liver glucose-transport system». *Biochem. J.*, núm. 240, pàg. 115-123.
- COLVILLE, C. A.; M. J. SEATTER; T. J. JESS; G. W. GOULD; H. M. THOMAS (1993). «Kinetic-Analysis of the Liver-Type (GLUT2) and Brain-Type (GLUT3) Glucose Transporters in Xenopus Oocytes - Substrate

- Specificities and Effects of Transport Inhibitors». *Biochem. J.*, núm. 290, pàg. 701-706.
- CORMONT, M.; J. F. TANTI; T. GREMEAUX; E. VAN OBERGHEN; Y. LE MARCHAND-BRUSTEL (1991). «Subcellular-Distribution of Low-Molecular-Weight Guanosine Triphosphate-Binding Proteins in Adipocytes - Colocalization with the Glucose Transporter Glut-4». *Endocrinology*, núm. 129, pàg. 3343-3350.
- CORMONT, M.; J. F. TANTI; A. ZAHRAOUI; E. VAN OBERGHEN; A. TAVITIAN; Y. LE MARCHAND-BRUSTEL (1993). «Insulin and Okadaic Acid Induce Rab4 Redistribution in Adipocytes». *J. Biol. Chem.*, núm. 268, pàg. 19491-19496.
- CORVERA, S.; A. CHAWLA; R. CHAKRABARTI; M. JOLY; J. BUXTON; M. P. CZECH (1994). «A double leucine within the GLUT4 glucose transporter COOH-terminal domain functions as an endocytosis signal». *J. Cell Biol.*, núm. 126, pàg. 979-989.
- CRAIK, J. D.; K. R. F. ELLIOTT (1979). «Kinetics of 3-O-methyl-D-glucose transport in isolated rat hepatocytes». *Biochem. J.*, núm. 182, pàg. 503-508.
- CUSHMAN, S. W.; L. J. WARDZALA (1980). «Potential Mechanism of Insulin Action on Glucose Transport in the Isolated Rat Adipose Cell». *J. Biol. Chem.*, núm. 255, pàg. 4758-4762.
- CZECH, M. P.; A. CHAWLA; C. W. WOOD; J. BUXTON; M. ARMONI; W. TANG; M. JOLY; S. CORVERA (1993). «Exofacial Epitope-Tagged Glucose Transporter Chimeras Reveal COOH-Terminal Sequences Governing Cellular Localization». *J. Cell Biol.*, núm. 123, pàg. 127-135.
- DAVIDSON, N. O.; A. M. L. HAUSMAN; C. A. IFKOVITS; J. B. BUSE; G. W. GOULD; C. F. BURANT; G. I. BELL (1992). «Human Intestinal Glucose Transporter Expression and Localization of Glut5». *Am. J. Physiol.*, núm. 262, pàg. C795-C800.
- DAVIES, A.; S. A. BALDWIN; M. T. CAIRNS; K. MEERAN (1987). «Peptide-Specific Antibodies As Probes of the Orientation of the Glucose Transporter in the Human-Erythrocyte Membrane». *J. Biol. Chem.*, núm. 262, pàg. 9347-9352.
- DEL VECCHIO, R. L.; P. F. PILCH (1991). «Phosphatidylinositol 4-Kinase Is a Component of Glucose Transporter (Glut4)-Containing Vesicles». *J. Biol. Chem.*, núm. 66, pàg. 3278-3283.
- ETGEN, G. J. J.; A. R. MEMON; Y. G. J. THOMPSON; J. L. IVY (1993). «Insulin- and Contraction-stimulated Translocation of GTP-binding Proteins and GLUT4 Protein in Skeletal Muscle». *J. Biol. Chem.*, núm. 268, pàg. 20164-20169.
- FAN, Y. S.; L. L. HALEY; W. M. HENRY; T. KAYANO; T. B. SHOWS; M. G. BYERS; G. I. BELL; R. L. EDDY (1989). «Assignment of Genes Encoding 3 Human Glucose Transporter Transporter-Like Proteins (Glut4, Glut5 and Glut6) to Chromosome-17, Chromosome-1 and Chromosome-5, Respectively». *Cytogenetics and Cell Genetics*, núm. 51, pàg. 997.
- FISCHBARG, J.; M. CHEUNG; F. CZEGLEDY; J. LI; P. ISEROVICH; K. KUANG; J. HUBBARD; M. GARNER; O. M. ROSEN; D. W. GOLDE; J. C. VERA (1993). «Evidence that facilitative glucose transporters may fold as β -barrels». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 90, pàg. 11658-11662.
- FLIER, J. S.; H. F. LODISH; A. L. MCCALL; M. MUECKLER (1987). «Distribution of Glucose Transporter Messenger-RNA Transcripts in Tissues of Rat and Man». *J. Clin. Invest.*, núm. 79, pàg. 657-661.
- FROEHNER, S. C.; A. DAVIES; S. A. BALDWIN; G. E. LIENHARD (1988). «The Blood Nerve Barrier Is Rich in Glucose Transporter». *J. Neurocytol.*, núm. 17, pàg. 173-178.
- FUKUMOTO, H.; J. B. BUSE; G. I. BELL; S. SEINO; T. KAYANO; Y. EDWARDS; P. F. PILCH (1989). «Cloning and Characterization of the Major Insulin-Responsive Glucose Transporter Expressed in Human Skeletal-Muscle and Other Insulin-Responsive Tissues». *J. Biol. Chem.*, núm. 264, pàg. 7776-7779.
- FUKUMOTO, H.; S. SEINO; H. IMURA; Y. SEINO; G. I. BELL (1988a). «Characterization and Expression of Human HepG2 Erythrocyte Glucose-Transporter Gene». *Diabetes*, núm. 37, pàg. 657-661.
- FUKUMOTO, H.; S. SEINO; H. IMURA; Y. SEINO; R. L. EDDY; Y. FUKUSHIMA; M. G. BYERS; T. B. SHOWS; G. I. BELL (1988b). «Sequence, Tissue Distribution, and Chromosomal Localization of Messenger-RNA Encoding a Human Glucose Transporter-Like Protein». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 85, pàg. 5434-5438.
- GARIPPA, R. J.; T. W. JUDGE; D. E. JAMES; T. E. MCGRAW (1994). «The amino terminus of GLUT4 functions as an internalization motif but not an intracellular retention signal when substituted for the transferrin receptor cytoplasmic domain». *J. Cell Biol.*, núm. 124, pàg. 705-715.
- GERHART, D. Z.; L. R. DREWES (1990). «Glucose Transporters At the Blood Nerve Barrier Are Associated with Perineurial Cells and Endoneurial Microvessels». *Brain Res.*, núm. 508, pàg. 46-50.
- GOULD, G. W.; H. M. THOMAS; T. J. JESS; G. I. BELL (1991). «Expression of Human Glucose Transporters in Xenopus Oocytes -Kinetic Characterization and Substrate Specificities of the Erythrocyte, Liver, and Brain Isoforms». *Biochem.*, núm. 30, pàg. 5139-5145.
- GUMÀ, A.; C. MORA; T. SANTALUCÍA; F. VIÑALS; X. TESTAR; M. PALACÍN; A. ZORZANO (1992). «System A transport activity is stimulated in skeletal muscle in response to diabetes». *FEBS Lett.*, núm. 310, pàg. 51-54.
- HANEY, P. M.; J. W. SLOT; R. C. PIPER; D. E. JAMES; M. MUECKLER (1991). «Intracellular Targeting of the Insulin-Regulatable Glucose Transporter (Glut4)

- Is Isoform Specific and Independent of Cell Type». *J. Cell Biol.*, núm. 114, pàg. 689-699.
- HARIK, S. I.; R. N. KALARIA; L. ANDERSSON; P. LUNDAHL; G. PERRY (1990a). «Immunocytochemical Localization of the Erythroid Glucose Transporter - Abundance in Tissues with Barrier Functions». *J. Neurosci.*, núm. 10, pàg. 3862-3872.
- HARIK, S. I.; R. N. KALARIA; P. M. WHITNEY; L. ANDERSSON; P. LUNDAHL; S. R. LEDBETTER; G. PERRY (1990b). «Glucose Transporters Are Abundant in Cells with Occluding Junctions At the Blood Eye Barriers». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 87, pàg. 4261-4264.
- HARRIS, H. W.; M. L. ZIEDE; I. JO; T. G. HAMMOND (1994). «Characterization of purified endosomes containing the antidiuretic hormone-sensitive water channel from renal papilla». *J. Biol. Chem.*, núm. 269, pàg. 11993-12000.
- HARRISON, S. A.; J. M. BUXTON; B. M. CLANCY; M. P. CZECH (1991a). «Evidence That Erythroid-Type Glucose Transporter Intrinsic Activity Is Modulated by Cadmium Treatment of Mouse 3T3-L1 Cells». *J. Biol. Chem.*, núm. 266, pàg. 19438-19449.
- HARRISON, S. A.; J. M. BUXTON; M. P. CZECH (1991b). «Suppressed Intrinsic Catalytic Activity of Glut1 Glucose Transporters in Insulin-Sensitive 3T3-L1 Adipocytes». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 88, pàg. 7839-7843.
- HASPEL, H. C.; M. G. ROSENFELD; O. M. ROSEN (1988). «Characterization of Antisera to a Synthetic Carboxyl- Terminal Peptide of the Glucose Transporter Protein». *J. Biol. Chem.*, núm. 263, pàg. 398-403.
- HEBERT, D. N.; A. CARRUTHERS (1991). «Cholate-Solubilized Erythrocyte Glucose Transporters Exist as a Mixture of Homodimers and Homotetramers». *Biochem.*, núm. 30, pàg. 4654-4658.
- HIRSHMAN, M. F.; L. J. GOODEYAR; L. J. WARDZALA; E. D. HORTON; E. S. HORTON (1990). «Identification of an Intracellular Pool of Glucose Transporters from Basal and Insulin-Stimulated Rat Skeletal-Muscle». *J. Biol. Chem.*, núm. 265, pàg. 987-991.
- HOLMAN, G. D.; I. J. KOZKA; A. E. CLARK; C. J. FLOWER; J. SALTIS; A. D. HABBERFIELD; I. A. SIMPSON; S. W. CUSHMAN (1990). «Cell-Surface Labeling of Glucose Transporter Isoform Glut4 by bis-Mannose Photolabel - Correlation with Stimulation of Glucose-Transport in Rat Adipose-Cells by Insulin and Phorbol Ester». *J. Biol. Chem.*, núm. 265, pàg. 18172-18179.
- HRESKO, R. C.; M. KRUSE; M. STRUBE; M. MUECKLER (1994). «Topology of the GLUT1 glucose transporter deduced from glycosylation scanning mutagenesis». *J. Biol. Chem.*, núm. 269, pàg. 20482-20488.
- HUDSON, A. W.; M. L. RUIZ; M. J. BIRNBAUM (1992). «Isoform-Specific Subcellular Targeting of Glucose Transporters in Mouse Fibroblasts». *J. Cell Biol.*, núm. 116, pàg. 785-797.
- HUNDAL, H. S.; A. AHMED; A. GUMÀ; Y. MITSUMOTO; A. MARETTE; M. J. RENNIE; A. KLIP (1992). «Biochemical and Immunocytochemical Localization of the Glut5 Glucose Transporter in Human Skeletal-Muscle». *Biochem. J.*, núm. 286, pàg. 339-343.
- INUKAI, K.; T. ASANO; H. KATAGIRI; H. ISHIHARA; M. ANAI; Y. FUKUSHIMA; K. TSUKUDA; M. KIKUCHI; Y. YAZAKI; Y. OKA (1993). «Cloning and increased expression with fructose feeding of rat jejunal GLUT5». *Endocrinology*, núm. 133, pàg. 2009-2014.
- JAMES, D. E.; R. BROWN; J. NAVARRO; P. F. PILCH (1988). «Insulin-regulatable tissues express a unique insulin-sensitive glucose transport protein». *Nature*, núm. 333, pàg. 183-185.
- JAMES, D. E.; M. MUECKLER; M. STRUBE (1989b). «Molecular-Cloning and Characterization of an Insulin-Regulatable Glucose Transporter». *Nature*, núm. 338, pàg. 83-87.
- KAESTNER, K. H.; P. CORNELIUS; P. H. PEKALA; M. D. LANE; J. C. MCLENITHAN; L. T. BRAITERMAN; R. J. CHRISTY (1989). «Sequence, Tissue Distribution, and Differential Expression of Messenger-RNA for a Putative Insulin-Responsive Glucose Transporter in Mouse 3T3-L1 Adipocytes». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 86, pàg. 3150-3154.
- KAHN, B. B. (1992). «Facilitative Glucose Transporters - Regulatory Mechanisms and Dysregulation in Diabetes». *J. Clin. Invest.*, núm. 89, pàg. 1367-1374.
- KALARIA, R.; S. GRAVINA; S. HARIK; L. OLSSON; J. SCHMIDLEY (1987). «The Glucose Transporter of the Human Blood-Brain-Barrier». *Can. J. Neur. Sci.*, núm. 14, pàg. 339.
- KALARIA, R. N.; S. A. GRAVINA; J. W. SCHMIDLEY; G. PERRY; S. I. HARIK (1988). «The Glucose Transporter of the Human-Brain and Blood-Brain-Barrier». *Ann. Neurol.*, núm. 24, pàg. 757-764.
- KANDROR, K. V.; P. F. PILCH (1994a). «Identification and isolation of glycoproteins that translocate to the cell surface from GLUT4-enriched vesicles in an insulin-dependent fashion». *J. Biol. Chem.*, núm. 269, pàg. 138-142.
- (1994b). «gp160, a tissue-specific marker for insulin-activated glucose transport». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 91, pàg. 8017-8021.
- KANDROR, K. V.; L. YU; P. F. PILCH (1994). «The major protein of GLUT4-containing vesicles, gp160, has aminopeptidase activity». *J. Biol. Chem.*, núm. 269, pàg. 30777-30780.
- KARNIELI, E.; M. J. ZARNOVSKI; P. J. HISSIN; I. A. SIMPSON; L. B. SALANS; S. W. CUSHMAN (1981). «Insulin-stimulated Translocation of Glucose Transport Systems in the Isolated Rat Adipose Cell». *J. Biol. Chem.*, núm. 256, pàg. 4772-4777.

- KAYANO, T.; C. F. BURANT; H. FUKUMOTO; G. W. GOULD; Y. S. FAN; R. L. EDDY; M. G. BYERS; T. B. SHOWS; S. SEINO; G. I. BELL (1990). «Human Facilitative Glucose Transporters - Isolation, Functional-Characterization, and Gene Localization of cDNAs Encoding an Isoform (Glut5) Expressed in Small-Intestine, Kidney, Muscle, and Adipose-Tissue and an Unusual Glucose Transporter Pseudogene-Like Sequence (Glut6)». *J. Biol. Chem.*, núm. 265, pàg. 13276-13282.
- KAYANO, T.; H. FUKUMOTO; R. L. EDDY; Y. S. FAN; M. G. BYERS; T. B. SHOWS; G. I. BELL (1988). «Evidence for a Family of Human Glucose Transporter-Like Proteins - Sequence and Gene Localization of a Protein Expressed in Fetal Skeletal-Muscle and Other Tissues». *J. Biol. Chem.*, núm. 263, pàg. 15245-15248.
- KELLER, K.; M. MUECKLER; M. STRUBE (1989). «Functional Expression of the Human HepG2 and Rat Adipocyte Glucose Transporters in *Xenopus* Oocytes - Comparison of Kinetic-Parameters». *J. Biol. Chem.*, núm. 264, pàg. 18884-18889.
- KLIP, A.; A. MARETTE (1992). «Acute and chronic signals controlling glucose transport in skeletal muscle». *J. Cell Biochem.*, núm. 48, pàg. 51-60.
- KONO, T.; F. W. ROBINSON; T. L. BLEVINS; O. EZAKI (1982). «Evidence that Translocation of the Glucose Transport Activity Is the Major Mechanism of Insulin Action on Glucose Transport in Fat Cells». *J. Biol. Chem.*, núm. 257, pàg. 10942-10947.
- KOTLIAR, N.; P. F. PILCH (1992). «Expression of the Glucose Transporter Isoform Glut-4 Is Insufficient to Confer Insulin-Regulatable Hexose Uptake to Cultured Muscle-Cells». *Mol. Endocrinol.*, núm. 6, pàg. 337-345.
- KUSARI, J.; U. S. VERMA; J. B. BUSE; R. R. HENRY; J. M. OLEFSKY (1991). «Analysis of the Gene-Sequences of the Insulin-Receptor and the Insulin-Sensitive Glucose Transporter (GLUT-4) in Patients with Common-Type Non-Insulin-Dependent Diabetes-Mellitus». *J. Clin. Invest.*, núm. 88, pàg. 1323-1330.
- LAURIE, S. M.; C. C. CAIN; G. E. LIENHARD; J. D. CASTLE (1993). «The Glucose Transporter GLUT4 and Secretory Carrier Membrane Proteins (SCAMPs) Colocalize in Rat Adipocytes and Partially Segregate during Insulin Stimulation». *J. Biol. Chem.*, núm. 268, pàg. 19110-19117.
- LETOURNEUR, F.; R. D. KLAUSNER (1992). «A novel dileucine motif and a tyrosine-based motif independently mediate lysosomal targeting and endocytosis of CD3 chains». *Cell*, núm. 69, pàg. 1143-1157.
- MADON, R. J.; S. MARTIN; A. DAVIES; H. A. C. FAWCETT; D. J. FLINT; S. A. BALDWIN (1990). «Identification and characterization of glucose transport proteins in plasma membrane- and Golgi vesicle-enriched fractions prepared from lactating rat mammary gland». *Biochem. J.*, núm. 272, pàg. 99-106.
- MANTYCH, G. J.; D. E. JAMES; H. D. CHUNG; S. U. DEVASKAR (1992). «Cellular-Localization and Characterization of Glut-3 Glucose Transporter Isoform in Human Brain». *Endocrinology*, núm. 131, pàg. 1270-1278.
- MARETTE, A.; J. M. RICHARDSON; T. RAMLAL; T. W. BALON; M. VRANIC; J. E. PESSIN; A. KLIP (1992b). «Abundance, Localization, and Insulin-Induced Translocation of Glucose Transporters in Red and White Muscle». *Am. J. Physiol.*, núm. 263, pàg. C443-C452.
- MARSHALL, B. A.; H. MURATA; R. C. HRESKO; M. MUECKLER (1993). «Domains that confer intracellular sequestration of the GLUT4 glucose transporter in *Xenopus* oocytes». *J. Biol. Chem.*, núm. 268, pàg. 26193-26199.
- MARTIN, S.; B. REAVES; G. BANTING; G. W. GOULD (1994). «Analysis of the co-localization of the insulin-responsive glucose transporter (GLUT4) and the trans Golgi network marker TGN38 within 3T3-L1 adipocytes». *Biochem. J.*, núm. 300, pàg. 743-749.
- MASTICK, C. C.; R. AEBERSOLD; G. E. LIENHARD (1994). «Characterization of a major protein in GLUT4 vesicles. Concentration in the vesicles and insulin-stimulated translocation to the plasma membrane». *J. Biol. Chem.*, núm. 269, pàg. 6089-6092.
- MORA, S.; P. KALIMAN; J. CHILLARÓN; X. TESTAR; M. PALACÍN; A. ZORZANO (1995). «Insulin and IGF-I stimulate GLUT4 glucose transporter translocation in *Xenopus* oocytes». *Biochem. J.* [En premsa].
- MUECKLER, M.; H. R. MORRIS; I. BLENCH; W. J. ALLARD; S. A. BALDWIN; C. CARUSO; M. PANICO; G. E. LIENHARD; H. F. LODISH (1985). «Sequence and Structure of a Human Glucose Transporter». *Science*, núm. 229, pàg. 941-945.
- MUÑOZ, P.; M. ROSEMBLATT; X. TESTAR; M. PALACÍN; A. ZORZANO (1995). «Isolation and characterization of distinct domains of sarcolemma and T-tubules from rat skeletal muscle». *Biochem. J.*, núm. 307, pàg. 273-280.
- MURAOKA, A.; H. SAKURA; K. KIM; M. KISHIMOTO; Y. AKANUMA; J. B. BUSE; K. YASUDA; S. SEINO; G. I. BELL; Y. YAZAKI; M. KASUGA; T. KADOWAKI (1991). «Polymorphism in Exon 4A of the Human Glut4 Muscle-Fat Facilitative Glucose Transporter Gene Detected by SSCP». *Nucl. Acid Res.*, núm. 19, pàg. 4313.
- NAGAMATSU, S.; J. M. KORNHAUSER; C. F. BURANT; S. SEINO; K. E. MAYO; G. I. BELL (1992). «Glucose Transporter Expression in Brain - CDNA Sequence of Mouse Glut3, the Brain Facilitative Glucose Transporter Isoform, and Identification of Sites of Expression by Insitu Hybridization». *J. Biol. Chem.*, núm. 267, pàg. 467-472.
- NARAHARA H.J.; P. ÖZAND (1963). «Studies of tissue permeability. IX. The effect of insulin on the

- penetration of 3-O-methylglucose-H³ in frog muscle». *J. Biol. Chem.*, núm. 238, pàg. 40-49.
- OLSON, A. L.; M. L. LIU; W. S. MOYEROWLEY; J. B. BUSE; G. I. BELL; J. E. PESSIN (1993). «Hormonal Metabolic-Regulation of the Human Glut4/Muscle-Fat Facilitative Glucose Transporter Gene in Transgenic Mice». *J. Biol. Chem.*, núm. 268, pàg. 9839-9846.
- PEARSE, B. M.; M. S. ROBINSON (1990). «Clathrin, adaptors and sorting». *Annu. Rev. Cell Biol.*, núm. 6, pàg. 151-171.
- PESSIN, J. E.; G. I. BELL (1992). «Mammalian Facilitative Glucose Transporter Family - Structure and Molecular Regulation». *Annu. Rev. Physiol.*, núm. 54, pàg. 911-930.
- PESSINO, A.; D. N. HEBERT; C. W. WOON; S. A. HARRISON; B. M. CLANCY; J. M. BUXTON; A. CARRUTHERS; M. P. CZECH (1991). «Evidence That Functional Erythrocyte-Type Glucose Transporters Are Oligomers». *J. Biol. Chem.*, núm. 266, pàg. 213-217.
- PFEFFER, S. R. (1992). «GTP-binding proteins in intracellular transport». *Trends Cell Biol.*, núm. 2, pàg. 41-46.
- PIPER, R. C.; L. J. HESS; D. E. JAMES (1991). «Differential Sorting of 2 Glucose Transporters Expressed in Insulin-Sensitive Cells». *Am. J. Physiol.*, núm. 260, pàg. C570-C580.
- PIPER, R. C.; C. TAI; P. KULESZA; S. H. PANG; D. WARNOCK; J. BAENZIGER; J. W. SLOT; H. J. GEUZE; C. PURI; D. E. JAMES (1993). «Glut-4 NH₂ Terminus Contains a Phenylalanine-Based Targeting Motif That Regulates Intracellular Sequestration». *J. Cell Biol.*, núm. 121, pàg. 1221-1232.
- PIPER, R. C.; C. TAI; J. W. SLOT; C. S. HAHN; C. M. RICE; H. HUANG; D. E. JAMES (1992). «The Efficient Intracellular Sequestration of the Insulin-Regulatable Glucose Transporter (Glut-4) Is Conferred by the NH₂ Terminus». *J. Cell Biol.*, núm. 117, pàg. 729-743.
- RAND, E. B.; A. M. DEPAOLI; N. O. DAVIDSON; G. I. BELL; C. F. BURANT (1993). «Sequence, Tissue Distribution, and Functional-Characterization of the Rat Fructose Transporter Glut5». *Am. J. Physiol.*, núm. 264, pàg. G1169-G1176.
- ROBINSON, L. J.; S. H. PANG; D. S. HARRIS; J. HEUSER; D. E. JAMES (1992). «Translocation of the Glucose Transporter (Glut4) to the Cell-Surface in Permeabilized 3T3-L1 Adipocytes - Effects of ATP, Insulin, and GTP-Gamma-S and Localization of Glut4 to Clathrin Lattices». *J. Cell Biol.*, núm. 117, pàg. 1181-1196.
- SANTALUCÍA, T.; M. CAMPS; A. CASTELLÓ; P. MUÑOZ; A. NUEL; X. TESTAR; M. PALACÍN; A. ZORZANO (1992). «Developmental Regulation of Glut-1 (Erythroid HepG2) and Glut-4 (Muscle Fat) Glucose Transporter Expression in Rat- Heart, Skeletal-Muscle, and Brown Adipose-Tissue». *Endocrinology*, núm. 130, pàg. 837-846.
- SARKAR, H. K.; B. THORENS; H. F. LODISH; H. R. KABACK (1988). «Expression of the Human-Erythrocyte Glucose Transporter in Escherichia-Coli». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 85, pàg. 5463-5467.
- SHANAHAN, M. F.; J. DARTELELLIS (1984). «Orientation of the Glucose Transporter in the Human-Erythrocyte Membrane. Investigation by In Situ Proteolytic Dissection». *J. Biol. Chem.*, núm. 259, pàg. 3878-3884.
- SHEPHERD, P. R.; E. M. GIBBS; C. WESSLAU; G. W. GOULD; B. B. KAHN (1992). «Human small intestine facilitative fructose/glucose transporter (GLUT5) is also present in insulin-responsive tissues and brain: Investigation of biochemical characteristics and translocation». *Diabetes*, núm. 41, pàg. 1360-1365.
- SHIBASAKI, Y.; T. ASANO; J. L. LIN; K. TSUKUDA; H. KATAGIRI; H. ISHIHARA; Y. YAZAKI; Y. OKA (1992). «2 Glucose Transporter Isoforms Are Sorted Differentially and Are Expressed in Distinct Cellular Compartments». *Biochem. J.*, núm. 281, pàg. 829-834.
- SHOWS, T. B.; G. I. BELL; M. G. BYERS; C. R. DEHAVEN; R. L. EDDY; Y. FUKUSHIMA; J. C. MURRAY (1987). «Polymorphic Human Glucose Transporter Gene (Glut) Is on Chromosome 1p31.3 - p35». *Diabetes*, núm. 36, pàg. 546-549.
- SILVERMAN, M. (1991). «Structure and function of hexose transporters». *Ann. Rev. Biochem.*, núm. 60, pàg. 757-794.
- SLOT, J. W.; H. J. GEUZE; S. GIGENGACK; G. E. LIENHARD; D. E. JAMES (1991). «Immuno-Localization of the Insulin Regulatable Glucose Transporter in Brown Adipose-Tissue of the Rat». *J. Cell Biol.*, núm. 113, pàg. 123-135.
- SMITH, R. M.; M. J. CHARRON; N. SHAH; H. F. LODISH; L. JARETT (1991). «Immunoelectron Microscopic Demonstration of Insulin-Stimulated Translocation of Glucose Transporters to the Plasma-Membrane of Isolated Rat Adipocytes and Masking of the Carboxyl-Terminal Epitope of Intracellular Glut4». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 88, pàg. 6893-6897.
- SUZUE, K.; B. THORENS; H. F. LODISH (1989). «Sequence of the Mouse-Liver Glucose Transporter». *Nucl. Acid. Res.*, núm. 17, pàg. 99.
- SUZUKI, K.; T. KONO (1980). «Evidence that insulin causes translocation of glucose transport activity to the plasma membrane from an intracellular storage site». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 77, pàg. 2542-2545.
- TAKATA, K.; T. KASAHARA; M. KASAHARA; O. EZAKI; H. HIRANO (1990). «Erythrocyte HepG2-Type Glucose Transporter Is Concentrated in Cells of Blood-Tissue Barriers». *Biochem. Biophys. Res. Commun.*

- núm. 173, pàg. 67-73.
- TAKEDA, J.; T. KAYANO; H. FUKOMOTO; G. I. BELL (1993). «Organization of the Human GLUT2 (Pancreatic Beta-Cell and Hepatocyte) Glucose Transporter Gene». *Diabetes*, núm. 42, pàg. 773-777.
- THOUIDIS, G.; N. KOTLIAR; P. F. PILCH (1993). «Immunological Analysis of Glut4-Enriched Vesicles - Identification of Novel Proteins Regulated by Insulin and Diabetes». *J. Biol. Chem.*, núm. 268, pàg. 11691-11696.
- THOMAS, H. M.; J. TAKEDA; G. W. GOULD (1993). «Differential Targeting of Glucose Transporter Isoforms Heterologously Expressed in *Xenopus* Oocytes». *Biochem. J.*, núm. 290, pàg. 707-715.
- THORENS, B.; Z. Q. CHENG; D. BROWN; H. F. LODISH (1990). «Liver Glucose Transporter - A Basolateral Protein in Hepatocytes and Intestine and Kidney-Cells». *Am. J. Physiol.*, núm. 259, pàg. C279-C285.
- VERA, J. C.; O. M. ROSEN (1989). «Functional Expression of Mammalian Glucose Transporters in *Xenopus*-*Laevis* Oocytes - Evidence for Cell-Dependent Insulin Sensitivity». *Mol. Cell. Biol.*, núm. 9, pàg. 4187-4195.
- VERHEY, K. J.; S. F. HAUSDORFF; M. J. BIRNBAUM (1993). «Identification of the Carboxy Terminus as Important for the Isoform-Specific Subcellular Targeting of Glucose Transporter Proteins». *J. Cell Biol.*, núm. 123, pàg. 137-147.
- VERHEY, K. J.; M. J. BIRNBAUM (1994). «A Leu-Leu sequence is essential for COOH-terminal targeting signal of GLUT4 glucose transporter in fibroblasts». *J. Biol. Chem.*, núm. 269, pàg. 2353-2356.
- VILARÓ, S.; M. PALACÍN; P. F. PILCH; X. TESTAR; A. ZORZANO (1989). «Expression of an insulin-regulatable glucose transporter in endothelial cells». *Nature*, núm. 342, pàg. 798-800.
- VOLCHUK, A.; R. SARGEANT; S. SUMITANI; Z. LIU; L. HE; A. KLIP (1995). «Cellubrevin is a resident protein of insulin-sensitive GLUT4 glucose transporter vesicles in 3T3-L1 adipocytes». *J. Biol. Chem.*, núm. 270, pàg. 8233-8240.
- WADDELL, I. D.; A. G. ZOMERSCHOE; M. W. VOICE; A. BURCHELL (1992). «Cloning and expression of a hepatic microsomal glucose transport protein». *Biochem. J.*, núm. 286, pàg. 173-177.
- WADZINSKI, B. E.; M. F. SHANAHAN; R. B. CLARK; A. E. RUOHO (1988). «Identification of the Glucose Transporter in Mammalian-Cell Membranes with a I-125 Forskolin Photoaffinity Label». *Biochem. J.*, núm. 255, pàg. 983-990.
- WALMSLEY, A. R. (1988). «The Dynamics of the Glucose Transporter». *Trends Biochem. Sci.*, núm. 13, pàg. 226-231.
- WEILERGÜTTLER, H.; H. ZINKE; A. FREY; H. G. GASSEN; B. MOCKEL (1989). «CDNA Cloning and Sequence-Analysis of the Glucose Transporter from Porcine Blood-Brain-Barrier». *Biol. Chem. Hoppe-Seyler*, núm. 370, pàg. 467-473.
- WILLIAMS, S. A.; M. J. BIRNBAUM (1988). «The Rat Facilitated Glucose Transporter Gene - Transformation and Serum-Stimulated Transcription Initiate from Identical Sites». *J. Biol. Chem.*, núm. 263, pàg. 9513-9518.
- YANO, H.; Y. SEINO; N. INAGAKI; Y. HINOKIO; T. YAMAMOTO; K. YASUDA; K. MASUDA; Y. SOMEYA; H. IMURA (1991). «Tissue Distribution and Species-Difference of the Brain Type Glucose Transporter (Glut3)». *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, núm. 174, pàg. 470-477.
- ZORZANO, A.; P. MUÑOZ; M. CAMPS; C. MORA; X. TESTAR; M. PALACÍN (1995). «Insulin-induced redistribution of GLUT4 glucose carriers in the muscle fiber: in search of GLUT4 trafficking pathways». *Diabetes*. [En premsa].
- ZORZANO, A.; W. WILKINSON; N. KOTLIAR; G. THOUIDIS; B. E. WADZINSKI; A. E. RUOHO; P. F. PILCH (1989). «Insulin-Regulated Glucose-Uptake in Rat Adipocytes Is Mediated by 2 Transporter Isoforms Present in at Least 2 Vesicle Populations». *J. Biol. Chem.*, núm. 264, pàg. 12358-12363.