

Effects of Pentoses on 2-deoxy-D-Glucose Transport of the Endogenous Sugar Transport Systems in *Spodoptera frugiperda* Clone 9 Cells

Chong-Kee Lee[†]

Department of Immunology, School of Medicine, Catholic University of Daegu, Daegu 705-718, Korea

Insect cells such as *Spodoptera frugiperda* Clone 9 (Sf9) cells are widely chosen as the host for heterologous expression of a mammalian sugar transport protein using the baculovirus expression system. Characterization of the expressed protein is expected to include assay of its function, including its ability to transport sugars and to bind inhibitory ligands such as cytochalasin B. It is therefore very important first to establish the transport characteristics and other properties of the endogenous sugar transport proteins of the host insect cells. However, very little is known of the transport characteristics of Sf9 cells, although their ability to grow on TC-100 medium strongly suggested the presence of endogenous glucose transport system. In order to investigate the substrate and inhibitor recognition properties of the Sf9 cell transporter, the ability of pentoses to inhibit 2-deoxy-D-glucose (2dGlc) transport was investigated by measuring inhibition constants (K_i). To determine the time period over which of sugar into the Sf cells was linear, the uptake of 2dGlc 0.1 mM extracellular concentration was measured over periods ranging from 30 seconds to 30 minutes. The uptake was linear for at least 2 minutes at the concentration, implying that uptake made over a 1 minute time course would reflect initial rates of the sugar uptake. The data have also revealed the existence of a saturable transport system for pentose uptake by the insect cells. The transport was inhibited by D-xylose and D-ribose, although not as effective as hexoses. However, L-xylose had a little effect on 2dGlc transport in the Sf9 cells, indicating that the transport is stereoselective. Unlike the human erythrocyte-type glucose transport system, D-ribose had a somewhat greater apparent affinity for the Sf9 cell transporter than D-xylose. It is therefore concluded that Sf9 cells contain an endogenous sugar transport activity that in some aspects resembled the human erythrocyte-type counterpart, although the Sf9 and human transport systems do differ in their affinity for cytochalasin B.

Key Words: Pentose transport, Insect cells, Pentose inhibition

서 론

사람의 당 수송 단백질은 생리적으로 매우 중요한 물질이다. 최근 과학의 발달은 박테리아를 포함한 원핵세포와 사람을 포함하는 진핵세포들에 존재하는 당 수송체들이 염기서열의 상동성을 가지는 커다란 당 수송체 집단 (sugar transport protein family)을 구성하고 있음을 입증하였다 (Mueckler et al., 1985; Baldwin and Henderson, 1989; James et al., 1989; Baldwin SA, 1993; Seatter and Gould, 1999; Joost and Thorens, 2001; Wood and Trayhurn, 2003). 이

러한 사실들은 당 수송 단백질들이 공동의 조상으로부터 기원, 진화되었음을 나타내고 있다. 따라서 이들 중 어느 하나의 당 수송 기전이나, 삼차원적 구조를 정확히 밝혀 낼 수 있다면 이는 당 수송 단백질 집단 전체에 귀중한 자료가 될 수 있을 뿐 아니라, 당뇨병 치료와 예방을 위한 신약 개발에도 매우 유용한 정보가 될 수 있을 것이다.

이러한 목표를 달성하기 위해서는 당 수송체의 삼차원적 구조 분석을 위한 단백질의 결정화 (protein crystallization) 같은 생물리학적 연구와 단백질 구조와 기능의 상관관계를 위한 유전공학적 연구가 반드시 필요한데, 이들 연구에는 비교적 많은 양의 단백질 확보가 선행조건이다. 게다가, 세포막내에 있는 이들 수송 단백질의 양은 생물리학적, 구조적 연구를 위해서는 그 양이 충분하지 않으며 nucleoside transport 단백질과 같은 다른 물질로 오염되기 쉬워 (Jarvis and Young, 1981) 순수한 수송체만을 분리, 정제하기가 쉽지 않다. 이러한 까닭에 유전공학적

* 논문 접수: 2009년 2월 18일

수정재접수: 2009년 3월 11일

[†] 교신저자: 이종기, (우) 705-718 대구광역시 남구 대명4동 3056-6, 대구가톨릭대학교 의과대학 면역학교실

Tel: 053-650-4477, Fax: 053-650-4477

e-mail: leeck@cu.ac.kr

방법을 이용한 당 수송체들의 대량 생산을 위한 다양한 발현 노력들이 진행되어 왔으나 [*E. coli* (Sarkar et al., 1988; Thorens et al., 1988), *Xenopus* oocytes (Gould and Lienhard, 1989; Keller et al., 1989), mammalian cells (Asano et al., 1989; Gould et al., 1989; Harrison et al., 1990), transgenic mice (Liu et al., 1992)] 막 단백질 (membrane proteins)들이 갖는 특성으로 인해 다량의 기능성 있는 단백질 발현에는 실패하였다.

최근 baculovirus의 강력한 polyhedrin promoter와 *Spodoptera* 곤충세포를 이용한 사람 당 수송 단백질 발현 (Yi et al., 1992; Cope et al., 1994) 노력은 매우 고무적이었으나 곤충세포에 발현된 사람 적혈구형 당 수송체가 포도당을 수송할 수 있다는 직접적인 증거는 보여 주지는 못하였다. 그 주된 원인으로서는 baculovirus의 복제와 단백질 합성을 허용하는 숙주세포에 내재하는 당 수송체의 왕성한 활동 때문이었다. 이러한 숙주세포의 일종으로 *Spodoptera frugiperda* clone 9 (Sf9)와 같은 세포가 이용되며, 세포 배양을 위해서는 TC-100과 같은 배양액을 사용하는데 이 배양액에는 0.1% D-glucose가 주 탄소 원소로 함유되어 있다 (Summers and Smith, 1987). 이러한 사실은 이들 곤충세포에도 포도당 수송체가 존재하고 있다는 사실을 암시하고 있다. 그러나 포유동물의 당 수송체들과는 달리 이들에 존재하는 당 수송체의 특성에 관해서는 알려진 바가 거의 없다. 특히 사람 포도당 수송체의 기질에 관한 폭넓은 특이성과 억제제에 관해서는 이미 잘 알려져 있으나 (LeFevre, 1961, Chen and Lo, 1988, King et al., 1991) *Spodoptera* clone 9 세포의 당 수송체 기질과 억제제 특이성에 대해서는 알려진 바가 거의 없는 실정이다. 그러므로 곤충세포를 이용한 사람 당 수송체의 효율적 이용을 위해서는 *Spodoptera* 세포의 당 수송체 특성에 관한 보다 많은 연구를 필요로 한다. 따라서 본 연구에서는 Sf9 세포에 내재하는 당 수송체가 D-xylose, D-ribose, L-xylose 등과 같은 pentose에 대해 가지는 apparent affinity를 Sf9 세포의 2dGlc transport를 억제하는 pentose의 inhibition constants (K_i)를 측정함으로써 Sf9 세포의 억제제 인식 능력을 조사하였다.

재료 및 방법

1. Sf9 세포의 배양

곤충세포의 배양은 Summers와 Smith (1987)의 방법을 변형하여 배양하였다. Sf9 세포의 배양액으로는 TC-100

medium (Gibco)에 10% FCS, 1% 항생제 (penicillin 5,000 units/ml + streptomycin 5,000 µg/ml, Gibco-BRL)를 첨가하여 사용하였다. 세포 계대배양은 monolayer 형성 시 이루어졌으며, 주로 27~28°C에서 CO₂없이 배양하였다. 세포의 활성여부는 0.1 ml trypan blue (0.4% stock, pH 3.0)를 1 ml 세포에 첨가하여 현미경 아래서 관찰하여 이용하였다.

2. Sf9 세포의 membrane preparation

충분히 배양된 Sf9 세포로부터의 membrane 준비는 전에 알려진 방법을 이용하였다 (Lee, 2005). 주로 배양 4~5 일 후 수거하여 세 번을 세척액 (10 mM-sodium phosphate/150 mM-NaCl, pH 7.2)으로 씻은 후 protease inhibitors [(2 mM-iodoacetamide, 0.2 mM-phenylmethanesulphonyl fluoride, pepstatin A (10 g/ml)]들을 함유하는 부양액 (10 mM-Tris/5 mM-MgCl₂, pH 7.4)으로 0°C에서, 1분간 sonication하였다. 그 후에 1시간 동안 117,000 g_{av}로 원심 분리하여 soluble fraction으로부터 membrane fraction을 분리하였다.

3. Cytochalasin B binding assay

Sf9 세포에 내재하는 glucose transporter(s)를 위한 functional assay로서 cytochalasin B binding을 측정하였다. Zoccoli (1978) 등의 방법에 따라 평형투석법 (equilibrium dialysis)으로 농도 40 nM의 [4-³H] cytochalasin B를 사용하여 측정하였다.

4. Sugar transport assay

D-glucose uptake를 측정하기 위한 transport assay는 전에 보고된 방법을 이용하였다 (Lee, 2005). 간단히 요약하면, Sf9 세포의 2-(1,2-³H)-deoxy-D-glucose (30.2 Ci/mmol, 2dGlc) uptake의 실제 측정에 앞서 Sf9 세포를 두 번 phosphate-buffered saline (PBS, 10 mM sodium phosphate, 150 mM NaCl, pH 7.4)으로 곤충세포를 씻어, 배양액 속에 잔류된 포도당을 제거하고 필요할 때 까지 얼음에 보관하였다가 사용하였다. Transport는 1 ml의 세포 현탁액 (1 × 10⁶ cells/ml PBS)을 6,000 x g에서 15초 동안 원심 분리한 후에 세포를 150 µl의 PBS 용액에 다시 현탁시킨 후 28°C에서 2분간 배양하였다. Transport는 최종 당 농도 1 mM 주기 위해 1 µCi tritiated sugar를 함유하는 2.5 mM 2dGlc 100 µl를 첨가하면서 시작되었고, 28°C에서 1분간 배양 후 얼음에 차게 한 1 ml stop solution을 첨가하고 2,000 x g에서 20초간 원심 분리하여 transport assay를 끝

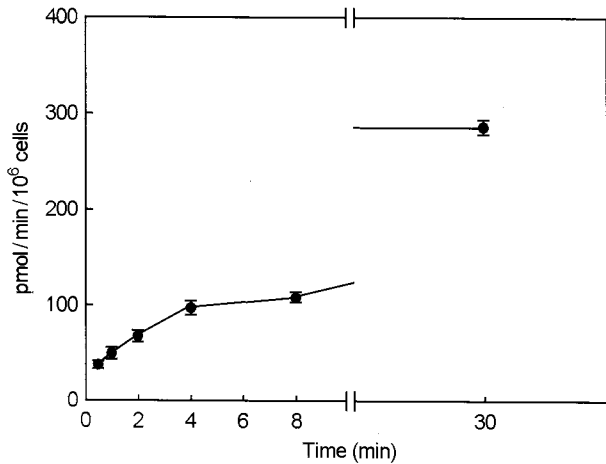


Fig. 1. Time course of 2-deoxy-D-glucose uptake by Sf9 cells from a low extracellular concentration of sugar. Transport was carried out in the presence of 100 μ M 2dGlc, as described in Materials and Methods. After the times indicated, uptake was terminated and the radioactivity accumulated was determined by scintillation counting. Each data point on the graph represents the mean of triplicate estimations. The data was corrected for the zero time uptake and converted into pmol/min/ 10^6 cells. The data points representing for some time intervals (9~29 min) were omitted for convenience.

마쳤다. 세포들은 위와 같은 방법으로 두 번 더 세척한 후에 10% SDS 200 μ l에 vortexing 하여 용해하였다. 마지막으로 150 μ l의 용해된 세포를 Microman pipette를 이용하여 4 ml의 scintillant 용액이 담긴 용기에 넣고 liquid scintillation counter (Beckman)를 이용하여 방사능을 측정하였다. 모든 결과들은 세 번 측정치의 (평균보다 10% 이하의 차이) 평균값으로 표시하였다.

결과 및 고찰

Sf9 세포의 당 수송 특성은 2-(1,2-³H)-deoxy-D-glucose (2dGlc)를 사용하여 1분간 측정하였다. Fig. 1에서 볼 수 있듯이 적어도 2분 동안은 당 uptake가 linear 하였다. 그러므로 1분간의 당 섭취 측정 실험은 Sf9 세포의 hexose 초기 섭취 율을 나타내고 있음을 알 수 있다. 이러한 결과는 전에 보고한 Sf21 세포 내 2dGlc의 영입이 높은 extracellular 농도에서도 적어도 2분간은 linear함을 보여 준 결과와 일치하였다 (Lee, 2005). 사람 erythrocyte-type 포도당 수송체의 기질 특이성은 비교적 잘 알려져 있으며 apparent affinity가 가장 큰 당은 2dGlc, D-glucose, D-mannose, D-galactose, D-xylose, L-glucose 등의 순이다 (LeFevre, 1961). 이와 반면에 Sf9 곤충세포에 내재하는 당 수송체의 기질과 억제제의 특이성에 대해서는 최근

보고한 바 있는 hexose에 대한 affinity 조사 (Lee, 2005) 이외는 별로 알려진 바가 없다. 특히 D-xylose와 D-ribose 같은 pentose에 대한 곤충세포 당 수송체의 substrate 특이성에 대해서는 전혀 알려진 바가 없다. 따라서 Sf9 세포의 당 수송체가 이들 pentose에 대해 가지는 affinity를 Sf9 세포의 2dGlc transport를 억제하는 pentose의 능력을 측정함으로써 조사하였다. 같은 기질 (2dGlc)의 사용으로 각 당에 대한 apparent K_i 는 사용된 pentose의 상대적 affinity 척도를 제공할 수 있었다. 그러므로 본 연구에서는 D-glucose의 homomorph인 D-xylose와 mirror-image enantiomorph인 L-xylose, D-ribose를 이용하여 이들 pentose가 Sf9 세포의 2dGlc transport에 미치는 영향을 inhibition constants (K_i)를 측정함으로써 조사하였다 (Fig. 2~4).

Transport assay는 재료 및 방법에서 언급한대로 실행하였고 수송은 Sf9 세포에 radiolabeled substrate를 함유하는 100 μ l PBS 용액과 적절한 농도의 억제제를 더함으로써 시작하였다. 수송은 1분 후 중단하였고 이어서 방사능을 측정하였다. 2dGlc uptake에 대한 경쟁적인 억제제의 효과는 다음 방정식에 의해 설명되어질 수 있다:

$$V_i = \frac{V_{max} \cdot S}{K_m \cdot (1 + I/K_i) + S} + M \cdot S \quad (1)$$

V_i = inhibitor 존재 하에서 uptake 속도, V_{max} (the maximum velocity), S = 기질 농도, M = uptake process의 non-saturable component를 설명하는 상수, K_m (the half-saturation concentration), I = inhibitor 농도, K_i = inhibition 상수이며 transport에 대한 K_m 과 V_{max} 는 non-linear regression program인 NZFITTER (Cambridge, UK)를 사용하여 평가하였다. 가역적 억제제 (reversible inhibitors)들의 K_i 는 흡수에 대한 억제제 농도의 plots에서 결정되었으며 Fig. 2~4는 각 억제제에 대한 데이터의 점들을 연결하는 방정식 (1)에 대한 최적의 그래프들이다. 이러한 접근 방법으로 시험된 pentose D-xylose는 K_i 가 28.5 ± 0.32 mM로 곤충세포 당 수송체의 D-galactose에 대한 apparent affinity (Lee, 2005) 보다는 다소 감소하였다 (Fig. 2). 이는 D-xylose의 apparent affinity가 D-galactose 보다 낮은 사람 erythrocyte-type 포도당 수송 체계와 유사점을 나타내었다 (LeFevre, 1961). 또한 L-xylose ($K_i = 41.5 \pm 0.23$ mM, Fig. 4)는 D-xylose와는 달리 Sf9 세포의 2dGlc transport에 큰 영향을 주지 못하였다. 따라서 Sf9 수송체의 당 수송도 사람 erythrocyte-type 당 수송체처럼 (LeFevre, 1961) 당의 D-stereoisomer

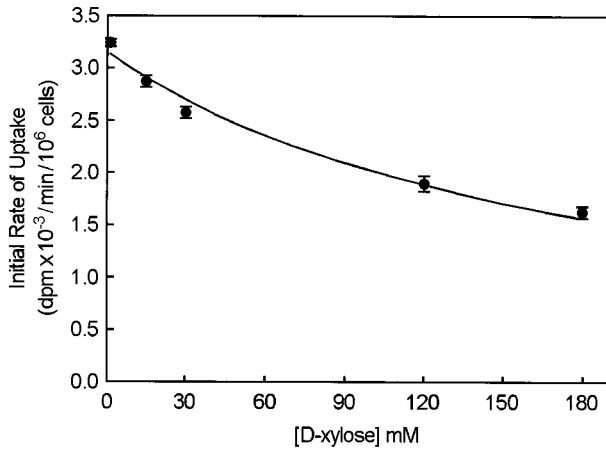


Fig. 2. Effect of D-xylose on 2-deoxy-D-glucose transport in Sf9 cells. Transport assay was carried out essentially as described in Materials and Methods. Transport was initiated by the addition of 100 μ l of PBS buffer containing [3 H]2dGlc and an appropriate concentration of D-xylose. After 1 min, the transport was terminated by addition of ice-cold stop solution. Cells were then solubilized and radioactivity was determined as described in Materials and Methods. The data were analyzed with the help of a non-linear regression program. The curve represents the best-fit of the data to equation (1). Each data point represents the mean of triplicates.

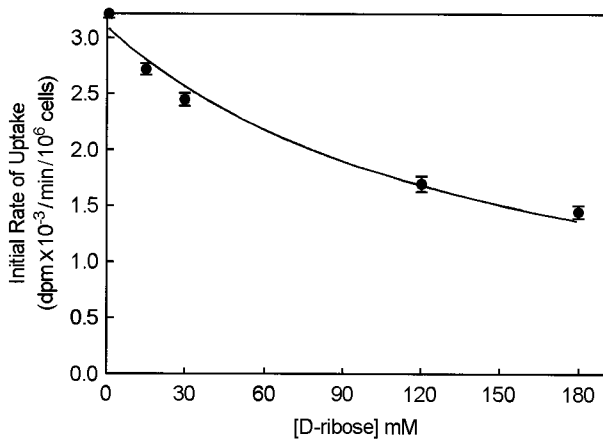


Fig. 3. Effect of D-ribose on 2-deoxy-D-glucose transport in Sf9 cells. Transport assay was carried out essentially as described in Materials and Methods. The ability of D-ribose to inhibit the uptake of 2dGlc was determined as described in the legend to Fig. 2. The curve represents the best fit of the data to equation (1). Each data point is the mean of triplicate estimations.

에 대해 특히 강한 특이성을 보여주고 있다. 이는 사람 erythrocyte-type 당 수송체의 기질 affinity에서 볼 수 있듯이 C1 conformation의 axial substituents가 D-glucose와 D-xylose에서처럼 자유로울 때 높은 affinity를 가지는 것으로 보인다 (LeFevre, 1961). 반면에 mirror-image L-glucose와 L-xylose는 반대형태인 1C form에서 상당히

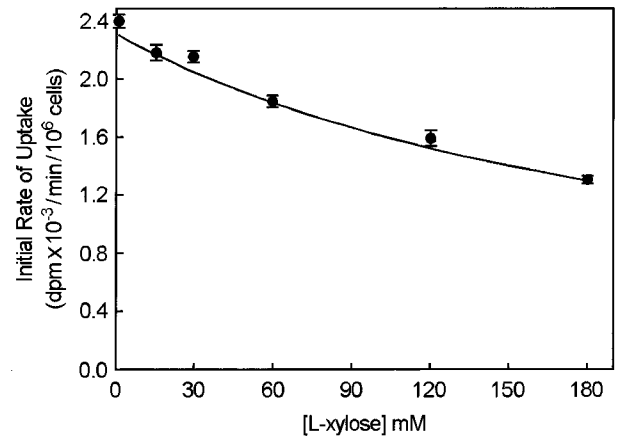


Fig. 4. Effect of L-xylose on 2-deoxy-D-glucose transport in Sf9 cells. Transport assay was carried out essentially as described in Materials and Methods. The ability of L-xylose to inhibit the uptake of 2dGlc was determined as described in the legend to Fig. 2. The curve represents the best fit of the data to equation (1). Each data point is the mean of triplicate estimations.

Table 1. Cytochalasin B binding to Sf9 cell membranes

Sample (1 mg/ml)	Cytochalasin B (B/F)		*Specific B/F
	(-) D-Glucose	(+) D-Glucose	
Sf9 cell membranes	0.049	0.047	0.002
Erythrocyte membranes	8.025	0.374	7.876

Membranes of Sf9 cells were prepared as described in the Materials and Methods. The assay for cytochalasin B binding activity of membrane samples was performed by equilibrium dialysis using 40 nM- 3 H]cytochalasin B, in the absence (-) or presence (+) of 400 mM D-glucose, as described in Zoccoli et al. (1978). Cytochalasin B binding activity (*) was calculated as described previously (Gorga and Lienhard, 1981). B/F = [bound cytochalasin B] / [free cytochalasin B].

안정되나 매우 낮은 affinity를 보인다. 따라서 당이 C1 conformation에서 증가하는 상대적 안정성을 가질 때, 증가하는 affinity를 가지는 상관관계를 나타내며 이는 당 수송체의 기질에 대한 affinity에 C1 conformation이 매우 중요한 역할을 하고 있음을 보여주고 있다. 그러나 Sf9 당 수송체의 D-ribose의 K_i (24.5 ± 0.27 mM)는 D-xylose에 대한 apparent affinity 보다는 다소 높아 (Fig. 3) 사람 erythrocyte-type 당 수송체의 기질 인식 특성과는 (LeFevre, 1961) 차이점을 보였다.

Cytochalasin B는 사람 적혈구형 당 수송체의 강력한 (K_d = 약 0.12 μ M) 억제제이다 (Baldwin et al., 1982). Sf9 세포에 내재하는 sugar transport system의 functional assay로서 cytochalasin B binding을 측정하였다. Table 1에 나타난 바와 같이 Sf9 세포의 specific B/F, 즉 Bound cytochalasin

B에 대한 Free cytochalasin B의 비율 (B/F)은 생물학적 활성이 있는 당 수송체 농도 측정에 좋은 척도가 될 수 있다 (Gorga and Lienhard, 1981; Baldwin et al., 1982). 따라서 Zoccoli 등 (1978)의 평형투석 방법 (equilibrium dialysis)을 이용하여 농도 40 nM의 [4-³H] cytochalasin B를 사용하여 3번씩 측정하였다. Table 1에 요약된 바와 같이 Sf9 세포에 대한 cytochalasin B 결합 활성은 1 mg/ml 시료당 0.002이었으나 사람 erythrocyte-type 당 수송체를 발현한 대조군에서는 7.876로 나타났다. 이는 Sf9 세포가 cytochalasin B에 의한 억제에 훨씬 덜 민감함을 나타낸다. 그러므로 Sf9 세포를 이용한 사람 당 수송체의 성공적인 이성질적 발현이 있을 시에는 cytochalasin B에 대한 sensitivity 차이점은 recombinant 당 수송체의 생물학적 활성을 판별하는데 매우 유용한 지표가 될 수 있음을 보여준다.

감사의 글

본 연구는 2008년도 대구가톨릭대학교 의과학연구소 연구비의 지원으로 이루어졌음. 아울러 도움을 준 영국 NERC에도 감사 드립니다.

REFERENCES

- Asano T, Shibasaki Y, Ohno S, Taira H, Lin JL, Kasuga M, Kanazawa Y, Akanuma Y, Takaku F, Oka Y. Rabbit brain glucose transporter responds to insulin when expressed in insulin-sensitive Chinese hamster ovary cells. *J Biol Chem.* 1989. 264: 3416-3420.
- Baldwin SA. Mammalian passive glucose transporters: members of an ubiquitous family of active and passive transport proteins. *Biochim Biophys Acta.* 1993. 1154: 17-49.
- Baldwin SA, Baldwin JM, Lienhard GE. Monosaccharide transporter of the human erythrocyte: Characterization of an improved preparation. *Biochemistry* 1982. 21: 3836-3842.
- Baldwin SA, Henderson PJF. Homologies between sugar transporters from eukaryotes and prokaryotes. *Annu Rev Physiol.* 1989. 51: 459-471.
- Chen SR, Lo TCY. Cytochalasin B as a probe for the two hexose-transport systems in rat L6 myoblasts. *Biochem J.* 1988. 251: 63-72.
- Cope DL, Holman GD, Baldwin SA, Wolstenholme AJ. Domain assembly of the GLUT1 glucose transporter. *Biochem J.* 1994. 300: 291-294.
- Gorga FR, Lienhard GE. Equilibria and kinetics of ligand binding to the human erythrocyte glucose transporter. Evidence for an alternating conformation model for transport. *Biochemistry* 1981. 20: 5108-5113.
- Gould GW, Derechin V, James DE, Tordjiman K, Ahern S, Gibbs EM, Lienhard GE, Mueckler M. Insulin-stimulated translocation of the HepG2/erythrocyte-type glucose transporter expressed in 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem.* 1989. 264: 2180-2184.
- Gould GW, Lienhard GE. Expression of a functional glucose transporter in *Xenopus* oocytes. *Biochemistry* 1989. 28: 9447-9452.
- Harrison SA, Buxton JM, Clancy BM, Czech MP. Insulin regulation of hexose transport in mouse 3T3-L1 cells expressing the human HepG2 glucose transporter. *J Biol Chem.* 1990. 265: 20106-20116.
- James DE, Strobe M, Mueckler M. Molecular cloning and characterization of an insulin-regulatable glucose transporter. *Nature* 1989. 338: 83-87.
- Jarvis SM, Young JD. Extraction and partial purification of the nucleoside-transport system from human erythrocytes based on the assay of nitrobenzylthioinosine-binding activity. *Biochem J.* 1981. 194: 331-339.
- Joost HG, Thorens B. The extended GLUT-family of sugar/polyol transport facilitators: nomenclature, sequence characteristics, and potential function of its novel members (review). *Mol Mem Biol.* 2001. 18: 247-256.
- Keller K, Strube M, Mueckler M. Functional expression of the human HepG2 and rat adipocyte glucose transporters in *xenopus* oocytes. *J Biol Chem.* 1989. 32: 18884-18889.
- King APJ, Tai PKK, Carter-Su C. Cytochalasin B interferes with conformational changes of the human erythrocyte glucose transporter induced by internal and external sugar binding. *Biochemistry* 1991. 30: 11546-11553.
- Lee CK. A study on the inhibition of 2-deoxy-D-Glucose transport of the endogenous glucose Transporters in *Spodoptera frugiperda* clone 21-AE cells by using hexoses. *J Exp Biomed Sci.* 2005. 11: 487-492.
- LeFevre PG. Sugar transport in the red blood cell: structure-activity relationships in substrates and antagonists. *Pharmacol Rev.* 1961. 13: 39-70.
- Liu ML, Olson AL, Moye-Rowley WS, Buse JB, Bell GI, Pessin JE. Expression and regulation of the human GLUT4/muscle-fat facilitative glucose transporter gene in transgenic mice. *J Biol Chem.* 1992. 267: 11673-11676.

- Mueckler M, Caruso C, Baldwin SA, Panico M, Blench I, Morris HR, Allard WJ, Lienhard GE, Lodish HF. Sequence and structure of a human glucose transporter. *Science* 1985. 229: 941-945.
- Sarker HK, Thorens B, Lodish HF, Kaback HR. Expression of the human erythrocyte glucose transporter in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988. 85: 5463-5467.
- Seatter MJ, Gould GW. The mammalian facilitative glucose transporter (GLUT) family. *Pharm Biotechnol.* 1999. 12: 201-228.
- Summers MD, Smith GE. A manual of methods for baculovirus vectors and insect cell culture procedures. *Tex Agric Exp Stn Bull.* 1987. No. 1555.
- Thorens B, Sarker HK, Kaback HR, Lodish HF. Cloning and functional expression in bacteria of a novel glucose transporter present in liver, intestine, kidney, and β -pancreatic islet cells. *Cell* 1988. 55: 281-290.
- Wood IS, Trayhurn P. Glucose transporters (GLUT and SGLT): Expanded families of sugar transport proteins. *Br J Nutr.* 2003. 89: 3-9.
- Yi CK, Charalambous BM, Emery VC, Baldwin SA. Characterization of functional human erythrocyte-type glucose transporter expressed in insect cells using a recombinant baculovirus. *Biochem J.* 1992. 283: 643-646.
- Zoccoli MA, Baldwin SA, Lienhard GE. The monosaccharide transport system of the human erythrocyte. Solubilization and characterization on the basis of cytochalasin B binding. *J Biol Chem.* 1978. 253: 6923-6930.
-