

# ラット肝リソソームの分子量85,000の膜糖蛋白質の 分離と性質

赤崎健司、木下弘子、福澤正隆、前田真人、山口泰典\*、  
古野浩二、辻 宏

*Chem. Pharm. Bull.* 40(1), 170-173 (1992)

## Isolation and characterization of a novel membrane glycoprotein of 85,000 molecular weight from rat liver lysosomes.

Akasaki, K., Kinoshita, H., Fukuzawa, M., Maeda, M.,  
Yamaguchi, Y\*., Furuno, K., Tsuji, H.

**Abstract** We have purified and characterized a novel glycoprotein (r-lamp-3) with an apparent molecular weight ( $M_r$ ) of 85,000 from membranes of triton-filled lysosomes (tritosomes) by the use of immunoaffinity chromatography on a column of monoclonal antibody-Sepharose 4B. r-lamp-3 accounted for approximately 4% of the total proteins in tritosomal membranes. The isoelectric point (pI) of r-lamp-3 was 4.5 and it was shifted to 6.5 after neuraminidase treatment with its molecular weight decreased by about 7000. Pulse-chase experiments in cultured rat hepatocytes using [ $^{35}$ S]methionine showed that r-lamp-3 was initially synthesized as a 77,000 polypeptide and processed to a mature protein with an  $M_r$  of 85,000. Upon treatment with endo- $\beta$ -N-acetylglucosaminidase H (Endo H), the precursor and mature forms were converted to 55,000 and 73,000 polypeptides, respectively. From the  $M_r$  reduction of the precursor form, we estimated the presence of 10-12 N-linked oligosaccharides/r-lamp-3 polypeptide. The data on enzymatic deglycosylation suggested that the mature form of r-lamp-3 contained the same numbers of high mannose-type and complex-type N-linked oligosaccharide chains.

モノクロナール抗体-セファロース4Bのカラムによるイムノアフィニティクロマトグラフィーを使用して、トライトンを取り込んだリソソーム (トライトソーム) の

膜から、分子量85,000の新しい糖蛋白質 (r-lamp-3) を精製して、そしてその特徴を調べた。r-lamp-3がトライトソームの膜の全蛋白質のおおよそ4%占めた。r-lamp-3の等電点 (pI) は4.5であった。ノイラミニダーゼ処理すると、pIは6.5になり、分子量は約7000減少した。最初は、r-lamp-3が分子量77,000ポリペプチドとして合成されて、そして85,000の分子量をもつ成熟蛋白質にプロセスされることが<sup>[35S]</sup>メチオニンを使う培養ラット肝実質細胞のパルスーチェイス実験により示された。エンド-β-N-アセチルグルコサミニダーゼH (Endo H) で処理すると、前駆体型と成熟型はそれぞれ分子量55,000と73,000ポリペプチドに変化した。前駆体型の分子量減少から計算すると、r-lamp-3ポリペプチドは10-12個のN-結合型の糖鎖を含有していることが考えられた。r-lamp-3の成熟型が高マンノース型糖鎖と複合体型糖鎖を同数含んでいることを酵素による糖鎖の除去に関するデータが示した。

\* 福山大学工学部