

## 細胞内取り込み機構に局在するライソゾーム膜糖蛋白質の 形態学的研究

古野浩二, 石川豊子\*, 赤崎健司, 矢野慎二\*, 田中嘉孝\*,  
山口泰典\*\*, 辻 宏, 姫野 勝\*, 加藤敬太郎\*

*J. Biochem.* 106, 708-716 (1989).

### Morphological Localization of a Major Lysosomal Membrane Glycoprotein in the Endocytic Membrane System

Koji FURUNO, Toyoko ISHIKAWA\*, Kenji AKAZAKI,  
Shinji YANO\*, Yoshitaka TANAKA\*, Yasunori YAMAGUCHI\*\*,  
Hiroshi TSUJI, Masaru HIMENO\*, and Kaitaro KATO\*

**ABSTRACT** We have raised specific polyclonal immunoglobulin G (IgG) against a major lysosomal membrane sialoglycoprotein (LGP 107) taken from rat liver and have prepared a conjugate of its Fab' fragment with horseradish peroxidase (HRP-anti LGP 107 Fab') as a probe for the subcellular antigen. Electron immunocytochemistry in primary cultured rat hepatocytes showed that LGP 107 resided primarily within lysosomes and was associated with luminal amorphous materials as well as limiting membranes. In addition, LGP 107 was shown to be substantially distributed throughout the endocytic vacuolar system. The glycoprotein was found clustered in coated pits at the cell surface and localized along the surrounding membranes in endocytic vesicles. When cultured cells were exposed to HRP-anti LGP 107 Fab', the antibody which was bound to its antigen within the coated pits was internalized *via* a system of endocytic vesicles and transported to lysosomes. During 20 min of incubation at 37°C, the HRP tracer appeared at an early stage in small vesicles and moved progressively to larger vesicles, including multivesicular bodies. After 1 h, the tracer could be clearly seen in lysosomes heterogenous in shape and size. The existence of LGP 107 in endocytic compartments and the uptake of anti LGP 107 antibody by hepatocytes were not blocked by prior treatment of the cells with cycloheximide and excess amounts of anti LGP 107 IgG. These data suggest that LGP 107 circulates between the cell surface and lysosomes through the endocytic membrane traffic in hepatocytes.

抄録 ラット肝ライソゾーム膜の主要な構成成分であるシアロ糖蛋白質 (LGP 107) に対する特異抗体を調製し、西洋ワサビ由来のペルオキシダーゼ標識 Fab' (HRP-anti LGP 107 Fab') を作製した。初代培養ラット肝細胞を酵素抗体法染色し電顕観察すると、(LGP 107) は主にライソゾームに依存しており、その限界膜と内腔の無定形物質に結合していた。更に、LGP 107 は細胞内取り込み膜輸送系にも相当量分布していることが判明した。本糖蛋白質は細胞表面ではコーティドピットに集合しており、エンドゾームでは限外膜に広く分布していた。培養液中に HRP-anti LGP 107 Fab' を添加すると、抗体はコーティドピット内の抗原に結合して細胞内に取り込まれ、エンドゾームによってライソゾームへと輸送された。細胞を 37℃ 加温すると、HRP 活性は 20 分後では小さな取り込み小胞から大きな空胞にまで、40 分後では種々の形や大きさの異なるライソゾームにまんべんなく検出された。この様な LGP 107 の細胞内取り込み系への局在、また HRP-anti LGP 107 Fab' の細胞内取り込みは、培養肝細胞をあらかじめシクロヘキシミドと過剰の非標識 LGP 107 抗体で処理した後も認められた。以上の結果は LGP 107 が細胞表面とライソゾーム間を細胞内取り込み系の膜の往来を通じて循環していることを示唆している。

\* Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University 九州大学薬学部

\*\* Faculty of Engineering, Fukuyama University 福山大学工学部