

主要なリソソームの膜タンパク質 (LGP85/LIMP II)
のカルボキシ末端側の細胞質の尾部に含れる酸性
のアミノ酸残基 Asp(470)と Glu(471)は、二次
リソソームにおけるその蓄積に重要である

田淵紀彦、赤崎健司、辻 宏

Biochem. Biophys. Res. Commun., 270(2), 557-563 (2000)

**Two acidic amino acid residues, Asp(470) and Glu(471),
contained in the carboxyl cytoplasmic tail of a major lysosomal
membrane protein, LGP85/LIMP II, are important for
its accumulation in secondary lysosomes**

Norihiko Tabuchi, Kenji Akasaki, Hiroshi Tsuji.

ABSTRACT: Lysosomal membrane glycoprotein termed LGP85 or LIMP II has a COOH-terminal cytoplasmic tail whose amino acid sequence is R(459)-GQGSMDEGTADERAPLIRT(478). Two acidic amino acid residues, D(470) and E(471), in the cytoplasmic tail of LGP85 are crucial for its binding to adaptor-like complex AP-3. In the present study we investigated their role(s) in intracellular distributions of LGP85 using two alanine substitution mutants at D(470) and E(471) (defined as D470A and E471A, respectively). Immunofluorescence analysis showed that D470A and E471A are localized to endocytic organelles as well as wild-type LGP85. However, the subcellular fractionation study revealed that D470A and E471A are different from wild-type LGP85 in the distribution among early endosomes, late endosomes, and lysosomes. A major portion of wild-type LGP85 existed in the densest lysosomal fraction. In contrast, a significant amount of D470A existed in the early endosomal fraction with a light buoyant density, while less D470A resided in the lysosomal fraction. E471A broadened from the early endosomal fraction to the lysosomal fraction without the high lysosomal peak. These findings indicate that the two acidic residues, D(470) and E(471), play an important role in regulation of LGP85 movement within the endocytic pathway, which finally makes the highest

concentration of LGP85 in the dense secondary lysosomes.

抄録 LGP85あるいはLIMP IIと呼ばれるリソソームの膜糖タンパク質は、アミノ酸配列がR (459) GQGSMDEGTADERAPLIRT (478)である、C-末端側に細胞質に突き出た尾部を持っている。LGP85の細胞質の尾部にある二つの酸性アミノ酸残基 [D (470) とE (471)] は尾部のアダプター様複合体AP-3への結合に不可欠である。本論文では、D (470) とE (471) における2つのアラニン置換変異体 (それぞれD470AとE471Aと定義した) を用いて、LGP85の細胞内の分布に於けるそれらの役割を研究した。D470AとE471Aが野生型LGP85と同様にエンドサトーシスのオルガネラに局在化されることが蛍光抗体法により示された。しかしながら、D470AとE471Aが初期のエンドソーム、後期のエンドソームとリソソームの間の分布において野生型LGP85と異なることが細胞分画法を用いた研究により明らかになった。大部分の野生型LGP85は、高密度のリソソーム画分に存在した。対照的に、D470Aは僅かにしかリソソーム画分に存在しない一方で、かなりの量のD470Aが、低密度の初期エンドソーム画分に存在した。E471Aでは高密度リソソーム画分にはピークがなく、初期のエンドソーム画分からリソソーム画分にかけて広く分布した。これらの知見は、二つの酸性アミノ酸残基 [D (470) とE (471)] が高密度の二次リソソームで最終的にLGP85を最高濃度にする、エンドサトーシスの経路内でのLGP85動きの制御に重要な役割を果たしているということを示している。