

細胞内取り込み機構で活動するライソゾーム膜糖蛋白質の 生化学的研究

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

J. Biochem. **106**, 717-722 (1989).

Biochemical Analysis of the Movement of a Major Lysosomal Membrane Glycoprotein in the Endocytic Membrane System

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

ABSTRACT HRP-anti LGP 107 Fab' and ^{125}I -anti LGP 107 IgG were used as probes to study the movement of LGP 107 in the endocytic membrane transport system in primary cultured hepatocytes of rats. Following the addition of HRP-anti LGP 107 Fab' to the culture medium, the transfer of the antibody conjugate from the cell surface to lysosomes was examined by cell fractionation on Percoll density gradients. The HRP tracer showed a bimodal subcellular distribution, in plasma membrane and lysosomal fractionations. The amount of HRP found in the lysosomal fractionations became larger as the period of cell incubation was increased. The rate of HRP accumulation in lysosomal fractionations was 0.13% of the administered load per hour per 10^6 cells. When cells were given ^{125}I -anti LGP 107 IgG, the antibody was not stored but was rapidly degraded in the lysosomes. The uptake of ^{125}I -IgG by the cell, which was assessed by measuring the TCA-soluble radiolabeled degradation products released into the medium, increased proportionally to the administered concentration of the antibody and to the incubation time. The rate of uptake of the polyvalent ^{125}I -IgG was comparable to that for the uptake of the monovalent HRP-Fab', and remained unchanged even after long exposure of the cell to a saturating concentration of the polyvalent IgG. This uptake process continued for many hours in the cells exposed to the protein synthesis inhibitor, cycloheximide. These results suggest that there is a continuous circulation of LGP 107 between the cell surface and lysosomal in hepatocytes.

抄録 ライソゾーム膜を構成する主要なシアロ糖蛋白質 (LGP 107) の初代培養肝細胞における取り込み膜輸送系での動きを調べるため、西洋ワサビ標識抗体 (HRP-anti LGP 107 Fab') 及び ^{125}I 標識抗体 (^{125}I -anti LGP 107 IgG) を調製した。HRP-anti LGP 107 Fab' を培養液中に添加し、抗体が細胞表面からライソゾームへ移行することを、細胞を Percoll 密度勾配遠心法分画して調べた。HRPは細胞膜とライソゾーム分画し、後者画分での HRP 量はインキュベーション時間に比例して増大していった。培養細胞へ ^{125}I -anti LGP 107 IgG を投与した場合、抗体は速やかに分解を受け、ライソゾーム内に貯留されなかった。培養液中に放出された TCA 可溶性放射性分解物量から ^{125}I -IgG の細胞内取り込み量を測定すると、取り込みは抗体の投与量とインキュベーション時間に比例して増加した。多価の抗体である ^{125}I -anti LGP 107 IgG の取り込み速度は単価抗体である HRP-anti LGP 107 Fab' のそれにほぼ匹敵し、飽和量の IgG で細胞を長時間前処理した後でも変化しなかった。また、抗体の細胞内取り込みは蛋白合成阻害剤のシクロヘキシミド処理後も長時間続いた。以上の結果から肝細胞では細胞表層とライソゾーム間を LGP 107 が絶え間なく循環していることが明らかとなった。

* 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