

ラット肝に存在する主要なリソソーム膜糖タンパク質 (r-lamp-2) の精製, 性状および組織分布

赤崎健司, 山口泰典, 古野浩二, 辻 宏

J. Biochem. 110(6), 922-927 (1991)

Purification, Some Properties, and Tissue Distribution of a Major Lysosome-Associated Membrane Glycoprotein (r-lamp-2) of Rat Liver

Kenji Akasaki, Yasunori

Yamaguchi*, Koji Furuno & Hiroshi Tsuji

ABSTRACT We previously purified and characterized a major lysosomal membrane glycoprotein (r-lamp-1) from rat liver [Akasaki *et al.* (1990) *Chem. Pharm. Bull.* 38, 2766-2770]. The present study describes the purification of another major lysosomal membrane glycoprotein (r-lamp-2) from rat liver and compares the tissue distribution of r-lamp-1 and r-lamp-2 in rats. R-lamp-2 was purified to apparent electrophoretic homogeneity from rat liver by a simple method with a protein yield of approximately 4.0 $\mu\text{g/g}$ wet weight of liver. The purification procedure includes: preparation of tritosomal membranes, extraction of tritosomal membranes with Lubrol PX, wheat germ agglutinin (WGA)-Sepharose affinity chromatography, and monoclonal antibody-Sepharose affinity chromatography. R-lamp-2 exhibited an M_r of 96,000 on SDS-PAGE and had an acidic pI of <3.5. R-lamp-2 contained 52.3% carbohydrates. Its carbohydrate moieties were composed of numerous sialyl complex type *N*-linked oligosaccharides and small amounts of *O*-linked oligosaccharides. Both r-lamp-1 and r-lamp-2 were detected in all rat tissues examined by immunoblot analyses, while their apparent molecular weights differed among the tissues. Immunological quantitative analysis showed that the protein concentrations of r-lamp-2 were consistently lower than those of r-lamp-1 in all the tissues tested. There was a significant correlation with a regression coefficient of 0.86 in the tissue distribution between r-lamp-1 and r-lamp-2. A good correlation was also observed in the tissue distribution between acid phosphatase and r-lamp-2. These results

suggested that r-lamp-1 and r-lamp-2 are constitutive proteins of lysosomal membranes and they are functionally related to each other.

抄録 以前報告した研究では (Akasaki *et al.* (1990) *Chem. Pharm. Bull.* 38, 2766-2770), ラット肝よりリソソーム膜の主要な糖タンパク質 (r-lamp-1) を精製し, その性質を明らかにした。本報告では, 別の主要なリソソーム膜糖タンパク質 (r-lamp-2) を精製し, r-lamp-1とr-lamp-2のラットにおける組織分布を比較した。

r-lamp-2はラット肝よりトライトソームを調製し, その膜を1% Lubrol PXで可溶化し, wheat germ agglutinin-Sepharoseを用いたアフィニティークロマトグラフィおよびmonoclonal antibody-Sepharoseを用いたイムノアフィニティークロマトグラフィにより, 電気泳動的に均一な状態にまで精製した。収量は1g湿肝当たり4.0 μ gであった。r-lamp-2はSDS-PAGEで分子量96,000を示し, 等電点は3.5以下であった。r-lamp-2の全重量の52.3%は糖質であり, 多量のシアロ化されたN結合型糖鎖と少量のO結合型糖鎖を含有していた。イムノプロット法により, r-lamp-1, r-lamp-2は両者とも, 調べたラットのすべての組織に検出された。しかし, それらの分子量は組織間で異なっていた。免疫学的方法でr-lamp-1およびr-lamp-2の組織における濃度を定量すると, ラットの組織全般にわたってr-lamp-1のほうがr-lamp-2より高い濃度で存在していた。r-lamp-1とr-lamp-2の組織分布には有意の相関関係がみられた (相関係数:0.86)。さらにr-lamp-2は酸性ホスファターゼと類似した組織分布を示した。これらの結果から, r-lamp-1とr-lamp-2はリソソーム膜の本質をなすタンパク質であり, それらは機能的に互いに関連していることが示唆された。