

培養ラット肝実質細胞における分子量85000
のリソソームの膜糖蛋白質の細胞表面と
リソソーム間の循環

赤崎健司、道原明宏、福澤正隆、木下弘子、辻宏

J. Biochem. 116 (3) 670–676 (1994)

Cycling of an 85-kDa Lysosomal Membrane
Glycoprotein between the Cell Surface and Lysosomes
in Cultured Rat Hepatocytes

Kenji Akasaki, Akihiro Michihara, Masataka
Fukuzawa, Hiroko Kinoshita, and Hiroshi Tsuji

Abstract We studied the endocytic transport of an 85-kDa lysosomal membrane glycoprotein (LGP85) from the cell surface to lysosomes in cultured rat hepatocytes. Fab' fragments of a monoclonal antibody against LGP85 (YA30 mAb) were conjugated with horseradish peroxidase (HRP) and then used as probes to monitor the endocytic transport of LGP85 from the plasma membrane to lysosomes. Continuous internalization and lysosomal transport of HRP-YA30 mAb Fab' occurred in the hepatic cells, resulting in its accumulation in the dense lysosomal fraction obtained from the cells on Percoll density centrifugation. The endocytic transport of HRP-YA30 mAb continued in the presence of the protein synthesis inhibitor, cycloheximide, indicating that LGP85 is cycled between the cell surface and lysosomes or endosomes, like other lysosomal membrane glycoproteins, lamp-1 and lamp-2, as reported previously [Akasaki *et al.* (1993) *J. Biochem.* 114, 598–604]. The half time ($t_{1/2}$) of internalization and lysosomal transport of LGP85 were 32 min and 2.0 h, respectively. The kinetics of endocytic transport for LGP85 are very similar to those of lamp-1 and lamp-2. LGP85 possesses a short cytoplasmic tail whose amino acid sequence is quite different from those of lamp-1 and lamp-2. Therefore, these results suggested that continuous internalization from the cell surface and lysosomal transport of endogenous LGP85 occur through a mechanism

that can recognize this novel amino acid sequence, probably a Leu-Ile-containing motif, in normal hepatic cells of rat.

培養ラット肝実質細胞で分子量85000のリソソーム膜糖蛋白質 (LGP85) の細胞表面からのリソソームへのエンドサイトーシス輸送を調べた。LGP85に対するモノクローナル抗体 (YA30 mAb) のFab'フラグメントを西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP) と共有結合させて、形質膜からリソソームへの LGP85 のエンドサイトーシス輸送をモニターするためのプローブとして使用した。HRP-YA30 mAb Fab'の連続的な内在化とリソソームの輸送が肝細胞で起こり、パーコール密度遠心法で細胞から調製した高密度のリソソーム画分へのHRPが蓄積した。HRP-YA30 mAbのエンドサイトーシス輸送は、たんぱく合成阻害剤 (シクロヘキシミド) が存在しても続いたので、細胞表面とリソソームもしくはエンドソーム間でLGP85が循環していることが明らかになった。LGP85の内在化とリソソームへの輸送のハーフタイム ($t_{1/2}$) はそれぞれ32分と2.0hであった。LGP85のエンドサイトーシス輸送のキネティクスは、以前に調べた主要なリソソーム膜糖蛋白質のlamp-1とlamp-2に非常に類似していた。LGP85はアミノ酸配列がlamp-1とlamp-2のそれらと全く異なる短い細胞質の尾部を持つことが知られている。ラットの正常肝細胞で、内在性のLGP85の細胞表面からの連続的な内在化とリソソームへの輸送がこの新たなアミノ酸配列 (多分Leu-Ileを含むモチーフ) を識別することができる機構を通して起こることをこれらの結果は示唆している。