

主要なリソソーム膜タンパク質 (LGP85/LIMP II) のジロイシン型モチーフの構成アミノ酸 Ile (476) はこのタンパク質が後期エンドソームとリソソームにおいて適切に分布するのに重要である。

田淵紀彦、赤崎健司、辻 宏

Biochem. Biophys. Res. Commun., **295**(1), 149-156 (2002)

Ile (476), a constituent of di-leucine-based motif of a major lysosomal membrane protein, LGP85/LIMP II, is important for its proper distribution in late endosomes and lysosomes

Norihiko Tabuchi, Kenji Akasaki, Hiroshi Tsuji.

ABSTRACT : Lysosomal membrane glycoprotein termed LGP85 or LIMP II extends a COOH-terminal cytoplasmic tail of R(459)GQGSMDDEGTADERAPLIRT(478), in which an L(475)I(476) sequence lies as a di-leucine-based motif for lysosomal targeting. In the present study, we explored the role of the I(476) residue in the localization of LGP85 to the endocytic organelles using two substitution mutants called I476A and I476L in which alanine and leucine are replaced at I(476), respectively, and I(476)R(477)T(478)-deleted LGP85 called Delta 476-478. Immunofluorescence analyses showed that I476A and I476L are largely colocalized in intracellular organelles with an endogenous late endosomal and lysosomal marker, LAMP-1, but there were some granules in which staining for the LGP85 mutants was prominent, while Delta 476-478 is detected in LAMP-1-positive and LAMP-1-negative intracellular organelles, and on the cell surface. The subcellular fractionation studies revealed that I476A, I476L, and Delta 476-478 are different from wild-type LGP85 in the distribution of early endosomes, late endosomes, and lysosomes. I476A and I476L are present more in late endosomes than in the densest lysosomes, whereas wild-type LGP85 is mainly lysosomal. Substitution of I(476) for A and L differentially modified the ratios of late endosomal to lysosomal LGP85. A major portion of Delta 476-478 resided in the light buoyant density fraction containing plasma membrane and early endosomes. Taken together, these results indicate that the existence of the 476th amino acid residue is essential for localization of LGP85 to late endocytic compartments. The fact that isoleucine but not leucine is in the 476th position is especially of importance in the proper distribution of LGP85 in late endosomes and lysosomes.

抄録 LGP85 或いは LIMP II と称するリソソームの膜糖タンパク質が、L(475)I(476)配列がリソソームの移行のためのジロイシン型モチーフとして配置される C-末端の尾部 [R(459)GQGSMDDEGTADERAPLIRT(478)] を細胞質に突き出す。本研究では、アラニンとロイシンが I476 と置換された 2 つの変異体 (それぞれ I476A と I476L と定義した) そして、I(476)R(477)T(478)が削除された LGP85 変異体 (Δ 476-478 と定義した) を用いて、エンドサトースिसに關係する細胞小器官への LGP85 の局在化における I(476)残基の役割を探索した。免疫蛍光顕微鏡分析では、I476A と I476L は内在性の後期エンドソーム/リソソームのマーカー (LAMP-1) を持つ細胞内のオルガネラと大体共存する。しかし、LGP85 突然変異体の染色が目立ついくつかの顆粒が存在していた。一方、 Δ 476-478 は LAMP-1-陽性 と LAMP-1-陰性の細胞内小器官にも、細胞表面にも検出された。I476A と I476L と Δ 476-478 が初期のエンドソーム、後期のエンドソームおよびリソソーム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示された。I476A と I476L が高密度のリソソームより後期のエンドソームに多く存在するのに対して、野生型 LGP85 が主にリソソームに存在する。I476A と I476L は、リソソームと後期エンドソームとに異なる比率で存在した。 Δ 476-478 の大部分は形質膜と初期のエンドソームを含む軽い浮遊密度画分に存在した。第476番目のアミノ酸残基の存在がエンドサトースिसの後期に關連するコンパートメントへの LGP85 の局在化のために不可欠であることをこれらの結果は示す。さらに、ロイシンではなくイソロイシンが第476番目の位置にあるという事実が、後期のエンドソームとリソソームにおける LGP85 の正しい分布に特に重要である。