

# リソソーム膜タンパク質 (LAMP-1) とその変異体は、 それらの細胞質テールとアダプタータンパク質 - 3 (AP-3) $\mu$ 鎖との親和性に依存してリソソームに輸送される

赤崎健司、坂根 洋、大土井祐介、岡本健太、主田一鷹、秦 季之

*BPB Reports* 2, 67-72 (2019)

## Targeting of Wild-Type and Mutated Forms of Lysosome-Associated Membrane Protein-1 (LAMP-1) to Late Endosomes/Lysosomes Depends on Affinities of Their Cytoplasmic Tail Peptides with a Medium Subunit of Adaptor Protein Complex-3 (AP-3)

Kenji Akasaki, Hiroshi Sakane, Yusuke Ohdoi, Kenta Okamoto,  
Kazutaka Nushida, Toshiyuki Hata

**ABSTRACT:** Lysosome-associated membrane protein-1 (LAMP-1) is a type I membrane glycoprotein with a COOH-terminal cytoplasmic tail (CT) containing a lysosome-targeting signal of GYQTI<sup>382</sup>-COOH. This sequence is categorized as a tyrosine-based motif of GYXX $\Phi$  where  $\Phi$  is a bulky hydrophobic amino acid residue. Lysosomal localization of LAMP-1 varies by changing the COOH-terminal amino acid residues. Adaptor protein (AP) complexes are reported to recognize the tyrosine-based signal peptide for efficient lysosomal transport of LAMP-1. In order to better understand the role of APs in lysosomal transport of LAMP-1, we have studied interactions of wild-type (WT) and mutated CTs of LAMP-1 with medium ( $\mu$ ) subunits of the four APs by a yeast two-hybrid (Y2H) system and subsequent computer-based molecular modeling. Among the  $\mu$  subunits of AP-1, AP-2, AP-3 and AP-4, called  $\mu$ 1,  $\mu$ 2,  $\mu$ 3A, and  $\mu$ 4, respectively, the WT-CT significantly interacted with  $\mu$ 3A in the Y2H system. The degree of interaction of the WT and mutated CTs with  $\mu$ 3A from the Y2H analyses correlated with that of their dissociation constants determined by computer-based molecular modeling, and also with that of the late endosomal and lysosomal amount of WT and the similar mutants of LAMP-1. These results reinforce the notion that AP-3 makes a major contribution to the vesicular transport of LAMP-1 to late endosomes and lysosomes *via* a direct intracellular route.

抄録 抄録 リソソーム関連膜タンパク質 -1 (LAMP-1) は、GYQTI<sup>382</sup>-COOH のリソソーム輸送シグナルを含む COOH 末端細胞質尾部 (CT) を持つ I 型膜糖タンパク質である。このシグナルは、 $\Phi$  が大きな疎水性アミノ酸残基である GYXX  $\Phi$  型のチロシンモ

チーフに分類される。LAMP-1 のリソソーム局在は、COOH 末端のアミノ酸残基によって変化する。アダプタータンパク質 (AP) 複合体は、LAMP-1 の効率的なリソソーム輸送のためにリソソーム輸送シグナルペプチドを認識することが知られている。LAMP-1 のリソソーム輸送における AP の役割をよりよく理解するために、野生型 (WT) および LAMP-1 の変異 CT と 4 つの AP の ( $\mu$ ) サブユニットとの相互作用をイースト・ツー・ハイブリッド (Y2H) 法で調べた。その結果、AP-1、AP-2、AP-3、および AP-4 の  $\mu$  サブユニット (それぞれ  $\mu 1$ 、 $\mu 2$ 、 $\mu 3A$ 、および  $\mu 4$ ) の中で、WT-CT は  $\mu 3A$  と有意に相互作用した。Y2H 分析から得られた  $\mu 3A$  との WT および変異 CT の相互作用の強さは、分子モデリングによって決定したそれらの解離定数と相関関係があった。後期エンドソームおよびリソソームへの輸送量とも相関した。これらの結果は、AP-3 が直接の細胞内経路を介して後期エンドソームおよびリソソームへの LAMP-1 の小胞輸送に大きく寄与するという概念を支持するものである。