



Title	Molecular Characterization of Human Zinc Transporter ZIP13
Author(s)	賓, 範浩
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/58494">https://hdl.handle.net/11094/58494</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	ビ 竇 範 浩
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第24677号
学位授与年月日	平成23年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 生命機能研究科生命機能専攻
学位論文名	Molecular characterization of human zinc transporter ZIP13 (ヒト亜鉛トランスポーターZIP13の性質研究)
論文審査委員	(主査) 教授 平野 俊夫 (副査) 教授 岩井 一宏 教授 米田 悅啓 准教授 村上 正晃

#### 論文内容の要旨

*SLC39A13/ZIP13* gene encodes a member of LYT (LIV-1 subfamily of ZIP zinc Transporters) proteins and plays an important role in connective tissue development in mouse and human. ZIP13 protein is involved in BMP/TGF- $\beta$  signaling and its dysfunction causes a novel type of Ehlers-Danlos Syndrome, the basic structural information and Zn transporting ability, however, have not been studied. Herein I report the first characterization of human ZIP13 protein. Computer prediction, glycosidase treatment, protease accessibility experiment and microscopic analysis demonstrated that ZIP13 protein is a non-glycosylated transporter which is comprised of eight putative transmembrane domains with a unique flanking sequence, and resides on the perinuclear space, mostly at the Golgi, with both N- and C- termini facing lumen side. Biochemical analysis in combination with cross-linking, immunoprecipitation and Blue Native-PAGE suggested that ZIP13 proteins form a homo-dimer. In addition, I showed that ZIP13 protein plays a role in intracellular Zn homeostasis by monitoring *Metallothionein* gene expression and Fluozin-3 staining. Furthermore, based on the characterization data, I analyzed the G74D mutation in ZIP13 which was found from a new variant of Ehlers-Danlos syndrome. G74D mutant showed that the decreased protein level that could be readily accumulated by proteosome inhibitor.

My data reveal that ZIP13 protein is an oligomerized and a Golgi-localized Zn transporter possessing unique structural features, which may highlight ZIP13 protein as a critical regulator of intracellular Zn homeostasis and will enable us to further investigate the unknown structural and functional characters of the human ZIP13 protein.

#### 論文審査の結果の要旨

ヒトの亜鉛トランスポーターZIP13は結合組織の発達に重要な働きをする。ZIP13に変異が入ると Ehlers-Danlos Syndromeを引き起こす。しかし、ZIP13の性質を研究した論文は未だ報告がなく、研究が遅れている。そこで今回ソフト解析と生化学実験を行い、ZIP13の性質の情報を得ることができた。ZIP13は両末端がlumen側に存在し、8回膜貫通ドメインを有する膜輸送体と予想され、亜鉛濃度非依存

的にperinuclear spaceに二量体を形成して存在することが明らかにした。細胞質側ループ2はもっとも柔軟な領域であり、ZIP familyにおいて多様性が見られた。そして亜鉛処理後のMetallothioneinの転写レベルの研究から、ZIP13が亜鉛の恒常性維持に関与していることを明らかにした。Ehlers-Danlos Syndromeの患者から見つかったG74D mutantはproteosomeによって分解を受けていて、細胞内の局在が変化していた。更に昆虫細胞を用いて、大量発現と精製に挑戦し、安定した蛋白質を得ることに成功し、ZIP13の性質研究に利用することができた。申請者のこの研究成果は、様々なヒトの疾患に関与している亜鉛トランスポーターの研究の進展に寄与したと考えられ、学位の授与に値すると考える。