

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	https://hdl.handle.net/11094/58494
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	濱 範 浩
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 2 4 6 7 7 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 悦啓 准教授 村上 正晃

論 文 内 容 の 要 旨

SLC39A13/ZIP13 gene encodes a member of LZT (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- β 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 proteasome 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。