

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

令和 7 年 4 月 28 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 杏林大学  
職 名 助教  
研究代表者 田中 弦

下記のとおり令和6年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号:24016)

1. 共同研究課題名	金属トランスポーターZIP13 の輸送基質の検討		
2. 共同研究目的	本共同研究では、これまで亜鉛トランスポーターとして同定されている ZIP13 に関して、その輸送基質を明らかにすることを目的とする。それにより生体内における ZIP13 の真の輸送基質を明らかにすることができると思われる。		
3. 共同研究期間	令和6年4月1日 ~ 令和7年3月31日		
4. 共同研究組織			
氏 名	所属等	職名等	役割分担
(研究代表者) 田中 弦	杏林大学医学部	助教	研究の総括
(分担研究者)			
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	分子糖代謝制御	氏 名 藤谷与士夫

次の6, 7, 8の項目は、枠を自由に変更できます(横幅は変更不可)。6, 7, 8の項目全体では2頁に収めてください。

## 6. 共同研究計画

### 1. ZIP13 の金属輸送能の評価

これまで、我々の輸送活性評価により、哺乳類の ZIP13 は亜鉛も鉄も輸送することを見出している。そこで、鉄と亜鉛、それぞれの Km 値を求める。さらに膜貫通領域内に存在する金属輸送に大事なアミノ酸残基に変異を導入した変異体を作成し、輸送評価を行う。同様の実験を、これまで鉄のみを輸送することが報告されているハエ ZIP13 についても行い、哺乳類とハエ ZIP13 の金属輸送能の相違点を解明する。

### 2. 細胞内小器官に局在する亜鉛トランスポーターの金属輸送活性評価

これまで ZIP ファミリーに関しては、輸送様式など不明な点が多い。特に細胞内小器官に局在する ZIP トランスポーターの輸送活性は全く分かっていない。そこで、我々が確立した、細胞膜表面上に局在するタンパク質との融合タンパク質を作成することにより、輸送活性評価が可能となる系を用い、他の細胞内小器官に局在する ZIP7, ZIP9, ZIP11 についても金属輸送活性評価も行う。さらに ZIP トランスポーターの輸送様式を明らかにするために、培地中の炭酸イオン濃度やプロトンの濃度を変更して検討する。

## 7. 共同研究の成果

本共同研究課題において、生体調節研究所との共同研究が貢献した内容についても具体的に記載してください。

細胞内小器官に局在する ZIP13 の輸送活性をアフリカツメガエル卵母細胞発現系で評価するため、細胞膜に局在する膜タンパク質である 4F2hc を ZIP13 の N 末端に融合した 4F2hc-m13 を設計・構築した。これがアフリカツメガエル卵母細胞の細胞膜表面へ局在すること、また、膜トポロジーが 4F2hc を融合したことで変化しないことを免疫染色で確認した。これらの結果を踏まえ、4F2hc-m13 が鉄と亜鉛を輸送するか  $^{55}\text{Fe}$  及び  $^{65}\text{Zn}$  を用いて検討した。その結果、4F2hc-m13 は鉄及び亜鉛をミカエリスメンテン式に従って輸送することが明らかとなり、そのミカエリス定数 Km は鉄が  $130\ \mu\text{M}$ 、亜鉛が  $137\ \mu\text{M}$  であった。これは 4F2hc-m13 は鉄と亜鉛に対する親和性に違いがなく、ZIP14 など他の亜鉛トランスポーターと比較し低いことを示している。最大輸送速度  $V_{\text{max}}$  に関しては亜鉛が鉄の 2 倍程度であった。現在この系を用いて ZIP13 の輸送形式を検討中であり、これらの結果と培養細胞系における金属動態の変化の結果を統合することで生体内における ZIP13 の真の輸送基質が明らかになると考えられる。

## 8. 共同研究成果に関連する学会発表・研究論文発表状況及び本研究所担当教員との共同研究に関する情報交換

(本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等をできる限り記載してください。なお、論文の場合は、PDF ファイルを以下の研究所庶務係のメールアドレスまで報告書と併せてお送りください。) 研究所庶務係 e-mail : [kk-msomu4@jimu.gunma-u.ac.jp](mailto:kk-msomu4@jimu.gunma-u.ac.jp)

### ① 本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

Fukunaka A, Tanaka G, Kimura T, Hengphasatporn K, Saito D, Shigeta M, Shibata H, Ichinose T, Ichitaro Abe, Shimura M, Sato T, Nakagawa Y, Horii T, Hatada I, Kajimura S, Kiyonari H, Sakurai H, Shigeta Y, Watada H, Fukada T, Fujitani Y. ZIP13 regulates lipid metabolism by changing intracellular iron and zinc balance. bioRxiv 07.03.601606, (2024)

### ② この共同研究に基づくとの記載のある論文

#### ② 学会発表を行った主なもの3件以内(学会名, 開催日, 演題)

第 42 回内分泌代謝学サマーセミナー、2024.7.12, 金属関連タンパク質と内分泌代謝疾患

第 97 回日本生化学会大会、2024.11.8, ZIP13 は脂肪細胞内の亜鉛と鉄の制御を介して脂肪分解を調節する

第 8 回国際亜鉛生物学会 (ISZB)、2024.12.3, Physiological roles of ZIP13 in muscle and fat: Analysis of newly generated Zip13-genetically modified mice

#### ④ 本研究所担当教員と申請代表者との共同研究に関する情報交換の状況(主なやり取りを箇条書き)

- ・ZOOM オンライン上での研究の進展状況や今後の方針についての情報交換
- ・メールによる情報交換