



Title	ES1 is a mitochondrial enlarging factor contributing to form mega-mitochondria in zebrafish cones
Author(s)	増田, 隆昌
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/56112
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論文内容の要旨

ES1 is a mitochondrial enlarging factor contributing to form mega-mitochondria in zebrafish cones.

(ES1はゼブラフィッシュ錐体のミトコンドリアの拡大を促進し、

メガミトコンドリアの形成に寄与する)

脊椎動物の網膜には、桿体と錐体の二種類の視細胞が存在する。視細胞はエネルギー消費が多く、外節近傍のエリプソイドにミトコンドリアのクラスターを形成してエネルギーを賄っている。明所視を担う錐体は、暗所視を担う桿体に比べてより多くのエネルギーを消費すると考えられており、その高いエネルギー需要と符合するように、一般に錐体エリプソイドには桿体よりも大きなミトコンドリアクラスターが形成されている。ゼブラフィッシュを含む一部の動物種の錐体には、直径が2 μmを超える巨大なミトコンドリア(メガミトコンドリア)が存在する。メガミトコンドリアは、その高いエネルギー需要を補っていると考えられているが、その形成メカニズムは未だ不明である。

当研究室は、コイの精製錐体試料中に多量に含まれるタンパク質ES1に着目してきた。ES1は、ゼブラフィッシュ網膜の主要なタンパク質として同定され、錐体内節に局在することが報告されている。その一次配列から、ES1はミトコンドリアに局在することが予測されたものの、その生理的役割に関する知見はこれまで得られていない。

今回の研究で私は、ES1が錐体メガミトコンドリアの形成に関わる因子の候補であると考えて、ES1の機能解析を行った。まず、ES1に対する抗体やRNAプローブを用いた局在解析から、ES1はゼブラフィッシュの錐体に特異的に発現し、ミトコンドリアの局在することを示した。次にモルフォリノを用いたES1の発現阻害実験を行った結果、4日齢稚魚において錐体ミトコンドリアの縮小が観察された。続いて、*Tol2* transposon systemを用いて、ES1を桿体で異所的に発現するトランスジェニック系統を作製し、桿体ミトコンドリアの表現型解析を行った。その結果、個々のミトコンドリアの拡大が観察され、中には直径が2 μmを超えるミトコンドリアも見られた。これらの結果から、ES1はミトコンドリアの拡大に寄与し、錐体メガミトコンドリアの形成に寄与することが示唆された。さらに、ES1発現桿体に対して次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子発現解析を行った。その結果、ES1発現桿体ではES1を発現していない陰性対照の桿体に比べて、ミトコンドリア関連遺伝子の発現が上昇していた。そのことから、ES1の導入によりミトコンドリア局在タンパク質の発現が増加し、その結果、ミトコンドリア新生が亢進したことが示唆された。さらにAMPKのリン酸化量および細胞内ATP量を測定した結果、ES1発現桿体内のATP含有量は野生型桿体に比べて多いことが示された。これらのことから、ES1はミトコンドリアの拡大を通して錐体のエネルギー産生に寄与することが示唆された。

学位申請者 増田 隆昌

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏名 (増田 隆昌)		
	(職)	氏名
論文審査担当者	主査 教授 小倉 明彦	
	副査 教授 古川 貴久	
	副査 教授 近藤 滋	
	副査 准教授 岡本 浩二	

論文審査の結果の要旨

脊椎動物の網膜視細胞には桿体と錐体があるが、それぞれ形態も機能も大きく異なる。その分子基盤を知るため、増田隆昌君は、ゼブラフィッシュの錐体に大量に発現しているタンパク質であるES1について、その生理的役割の解明に取り組んだ。

まず、ES1の発現は錐体ミトコンドリアに限局することを示した。モルフォリノオリゴヌクレオチドによるES1の発現阻害実験では、4日齢稚魚において錐体ミトコンドリアの縮小が観察された。これに対して、ES1を異所的に発現する桿体では、ミトコンドリアの拡大が観察された。これらの結果は、巨大なミトコンドリアが存在することが知られる錐体で、ES1がミトコンドリアの拡大に寄与している可能性を支持する。

次に、網羅的遺伝子発現解析を行った結果、ES1発現桿体ではミトコンドリア遺伝子の発現が上昇した。したがって、ES1はミトコンドリア局在タンパク質の発現を促し、ミトコンドリア新生を高進している可能性が支持された。また、細胞内ATP量を測定すると、ES1発現桿体内のATP含有量は野生型桿体に比べて多くなった。このことから、ES1はミトコンドリアの拡大を通じて錐体のエネルギー供給に寄与している可能性が支持された。

以上の研究は、網膜における桿体・錐体の形態的・機能的差異の分子基盤の解明に直結するものとして重要であり、博士学位論文としてふさわしいものと認める。