



Title	キュウリウオ科魚類の胚発生と生殖細胞に関する研究〔論文内容及び審査の要旨〕
Author(s)	高橋, 英佑
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(水産科学)
Dissertation Number	甲第12661号
Issue Date	2017-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/65475
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Eisuke_Takahashi_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（水産科学）

氏名： 高橋 英佑

審査委員

主査	教授	水田	浩之
副査	教授	荒井	克俊
副査	准教授	藤本	貴史
副査	教授	山羽	悦郎(北方生物圏フィールド科学センター)

学 位 論 文 題 目

キュウリウオ科魚類の胚発生と生殖細胞に関する研究

生殖系列キメラを作製し、異なる魚種の配偶子を生殖腺で分化させる発生工学的な技術が確立されつつある。このような技術では、対象となる魚種の生殖細胞の分化や生殖腺の形成の他、発生学的な知見が欠かせない。水産で利用される魚類は多様であり、対象となるそれぞれの魚種で基礎的な知見を明らかにしておく必要がある。

魚類の生殖系列の起源となる細胞は始原生殖細胞（PGC）である。PGC は、胚発生過程で母系の細胞質を受け継いだ割球から分化し、その後、受動的・能動的に移動して生殖腺に定着する。これらの過程は、モデル魚であるゼブラフィッシュやメダカで発生遺伝学的、分子生物学的な解析が進んでいる。しかし、これらの種はどちらも胃をもたず、PGC と生殖腺の形成の関係を解析する上では材料として不適切である。

キュウリウオ科の魚種には、ワカサギやシシヤモ等の水産重要種が含まれている。これらの魚種は、胚が透明で胃を含む消化器官が明瞭に区別でき、生殖腺が左右非対称に発達するという特徴をもつ。これらの特徴は、生殖腺の前後・左右性や、消化器系の臓器との相互関係を解析する上で最適なモデルとなる。本研究では、キュウリウオ科の魚類を用いて発生工学的な研究を行うための基盤を構築し（第一章～第二章）、さらに PGC の分化（第三章）と生殖腺の形成（第四章）の詳細な解析を行った。

まず第一章では、胚の操作や詳細な観察の阻害要因となる受精卵の卵膜を除去する条件を、キュ

ウリウオを材料として検討した。その結果、0.1%トリプシンを含むキュウリウオ科魚類用のリンゲル液 (pH 11.0) による処理で、卵膜除去が可能であることを明らかにした。この条件は、ワカサギとシシャモでも有効であることが示された。

第二章では、正常胚発生の過程を、卵膜を除去したキュウリウオとワカサギの胚で詳細に記載した。そして、両種での胚体形成の差異を明らかにするとともに、内胚葉系の消化器官の形成過程を組織学的な解析を含め明らかにした。特に、胆嚢や肝臓、膵臓が分化する *intestinal bulb* (IB: 腸管膨大部) が、体節形成期にモデル魚と同様に第 1 から第 3 体節部に分化するものの、これらとは異なり、発生の進行とともに第 11 から第 17 体節部に向かって後方へと移動することを明らかにした。

第三章では、生殖細胞質に特異的に分布する *vasa* mRNA を対象とした *whole-mount in situ hybridization* (WM-ISM)、特異的に蛍光を付与する GFP-bucky ball (BB) mRNA の顕微注入により、ワカサギにおける PGC の起源を明らかにした。その結果、ワカサギの PGC が他の魚種と同様に母系因子の取り込みにより決定することが明らかとなった。また、ワカサギとキュウリウオを材料に、GFP-nos3 3'UTR mRNA の顕微注入により PGC を可視化し、その動態を解析した。その結果、PGC が、エピボリー期には胚軸形成の細胞運動である *conversion-extension* 運動による受動的な、その後の能動的な移動をすることを明らかにした。

第四章では、PGC に蛍光を付与したワカサギを材料に、生殖腺付近の PGC 及び内臓器官の分布の変化を明らかにした。その結果、PGC の分布は、消化器官の分布に受動的に影響を受け、その結果として、生殖腺の腹腔内での配置が決まると考えられた。

本研究により、キュウリウオ科魚類を用いて発生学の研究、特に PGC の移動様式と生殖腺形成の解析を行うための基礎が整備された。今後、生殖腺の位置の決定機構の解明に加え、前後軸に沿った消化器官の分化機構の解明に大きく貢献できるものと考えられる。さらに、近年資源が減少しつつ有るシシャモの、生殖系列キメラを利用した配偶子誘導への応用が期待される。よって審査員一同は申請者が博士 (水産科学) の学位を授与される資格のあるものと判定した。