



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	魚類における異種由来細胞質が胚発生および配偶子形成に与える影響に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	遠藤, 充
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(水産科学)
Dissertation Number	甲第13883号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/77874
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Mitsuru_Endoh_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：遠藤 充

	主査	教授	水田	浩之
	副査	教授	都木	靖彰
	副査	准教授	藤本	貴史
審査委員	副査	特任教授	荒井	克俊
			(北海道大学 高等教育推進機構)	
	副査	教授	山羽	悦郎
			(北海道大学 北方生物圏フィールド科学センター)	

学 位 論 文 題 目

魚類における異種由来細胞質が胚発生および 配偶子形成に与える影響に関する研究

ミトコンドリアは独自のゲノムであるミトコンドリア DNA (mtDNA) を持ち、細胞質母系遺伝により子孫に受け継がれる。mtDNA の突然変異や、核と細胞質の組み合わせの変化により、核－細胞質間に不適合性が生じると、胚発生や生殖能力に異常をきたし、哺乳類の男性不妊症や植物の細胞質雄性不稔などが生じる。核－細胞質の相互作用に関する研究には、異種の核と細胞質からなる細胞で構成される核－細胞質雑種や、細胞内に変異型の mtDNA が混在するヘテロプラスミーを用いた解析が用いられ、魚類では異種間雄性発生法や核移植法が用いられてきた。また、ヘテロプラスミー胚は、単離した異種由来のミトコンドリアを初期胚に顕微注入することで誘起できる。

本学位論文では、モデル生物のゼブラフィッシュと、発生工学や育種のモデルとして有用なドジョウを含むコイ目魚類を材料に、核－細胞質雑種やヘテロプラスミー個体の誘起法を確立し、それらの生物学的特性を明らかにすることを目的として行われた。

第1章では、まず核－細胞質雑種誘起に向け、ゼブラフィッシュ雄性発生誘起における最適な紫外線照射量を決定した。そして、異種間雄性発生により、細胞質がゼブラフィッシュで、核が近縁種であるパールダニオ、キンギョ、四倍体ギンブナ、ドジョウ、クロレンドジョウとなる核－細胞質雑種を誘起し、ゼブラフィッシュとの類縁関係や倍数性の違

いによる胚発生能力への影響を調査した。その結果、半数性、二倍性の核をもつ核-細胞質雑種では、パールダニオでは形態的な改善は見られたもののどの組み合わせの核-細胞質雑種からも生存性の個体は生じなかった。以上の結果は、核-細胞質雑種の胚発生能力は倍数性よりも、核と細胞質の由来する種の組合せに依存することが示された。また、同時に誘起された二倍体雑種と三倍体雑種の胚発生と比較において、細胞質中の父系ゲノムが増加することにより形態異常が顕著となり、母系細胞質との不適合性が強く現れることが明らかとなった。

第2章では、ゼブラフィッシュを宿主に用い、異種であるキンギョ、ドジョウのミトコンドリアを移植することによりヘテロプラスミー胚を誘起し、ヘテロプラスミー胚の胚発生能力と移植ミトコンドリアの残存について調査した。その結果、ヘテロプラスミー胚は正常に発生し、移植されたミトコンドリアは孵化まで残存することが、蛍光顕微鏡観察において MitoTracker Green FM で蛍光標識された移植ミトコンドリアが確認されたことや、種特異的に増幅するプライマーを用いた PCR により異種由来の mtDNA が検出されたことから明らかとなった。

第3章では、系統間で遺伝的に大きく分岐する A 系統と B 系統のドジョウを用いて生存性の核-細胞質雑種を誘起した。ドジョウには二倍性の卵を産出し、クローン生殖を行う二倍体の自然クローンが存在する。本来、自然クローンは A 系統の細胞質を有するが、性転換したクローンドジョウの精子を用いた系統間雄性発生により、B 系統の細胞質を有するクローンドジョウ（クローン核-B 系統細胞質雑種）を誘起することが可能である。クローン核-B 系統細胞質雑種の配偶子形成を調査した結果、自然クローンではほとんど生じることのない、半数性の卵の産出が確認された。これは、核が異なる細胞質環境に置かれることで、本来の二倍性の卵形成から両性生殖個体が行う、いわゆる通常の減数分裂により卵形成が行われたこととなる。本研究により、魚類においても、細胞質が生殖や配偶子形成に影響を生じる可能性が示された。また生じた半数性卵の遺伝子型解析からは、アレルの重複や欠損が認められたことから、減数分裂において不等組換えが生じたことが考えられ、ドジョウ系統間での染色体構造の違いを反映することが示唆された。

これらの結果は、魚類においても細胞質が胚発生や表現型に影響を及ぼすことを示唆しており魚類発生生物学へ大きく貢献する。また、魚類における細胞質を用いた新たな生殖統御技術や育種技術の開発につながることを期待される。以上より、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。