



# HOKKAIDO UNIVERSITY

|                     |                                                                                                         |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title               | 異なる起源のゲノムを持つドジョウの配偶子形成過程における特殊な染色体挙動に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]                                                |
| Author(s)           | 黒田, 真道                                                                                                  |
| Degree Grantor      | 北海道大学                                                                                                   |
| Degree Name         | 博士(水産科学)                                                                                                |
| Dissertation Number | 甲第13884号                                                                                                |
| Issue Date          | 2020-03-25                                                                                              |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/77876">https://hdl.handle.net/2115/77876</a>                       |
| Rights(URL)         | <a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a> |
| Type                | doctoral thesis                                                                                         |
| File Information    | Masamichi_Kuroda_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：黒田 真道

|      |    |      |                          |    |
|------|----|------|--------------------------|----|
|      | 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

異なる起源のゲノムを持つドジョウの配偶子形成過程における  
特殊な染色体挙動に関する研究

日本国内に生息するドジョウ (*Misgurnus anguillicaudatus*) の多くは両性生殖で繁殖する二倍体 ( $2n=50$ ) であり、遺伝的に大きく異なる二系統 (A 系統, B 系統) の野生集団が存在する。また、北海道の網走管内大空町には有性生殖で繁殖する A 系統の他にクローン二倍体とクローン由来三倍体が生息する。クローン二倍体の雌は二倍性の非還元卵を産出し、精子核を取り込まず雌性発生によりクローン系統を維持している。クローンドジョウは、核遺伝子 *RAG1* や *IRBP2* の塩基配列がヘテロ接合となっていることから過去における二系統の交雑起源が推定され、核ゲノムの構成は AB であると考えられている。

クローンドジョウを人為的に性転換したクローン二倍体雄は非還元の二倍性精子を形成する。しかし、クローンドジョウと同じゲノム構成の系統間雑種の雄は正常な精子を産出せず不妊となる。また、クローンドジョウが産出する二倍性卵に精子核が偶発的に取り込まれるとクローン由来三倍体が出現する。クローン由来三倍体の雌は減数分裂雑種発生により半数性卵を産出するため妊性を有するが、雄は系統間雑種と同様に受精能力を持つ精子は極めて少なく不妊となる。

これらの特殊な配偶子形成を行う個体は、由来の異なるゲノムを併せ持つ。したがって、特殊な配偶子形成には生殖細胞における異質なゲノム構成が関係していることが強く示唆

される。そこで本学位論文では、二系統の染色体を分子細胞遺伝学的に識別する方法を確立し、生殖細胞の異質なゲノム構成が配偶子形成過程の染色体挙動に与える影響を解明することを目的とした。

第一章では、B 系統の染色体を分子細胞遺伝学的に識別するための Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) に用いるプローブの開発を行い、反復配列 DNA マーカーのプローブ (ManDra-B) を用いることで、B 系統の全 50 本の染色体のセントロメア領域に明瞭なシグナルを呈するプローブの開発に成功し、B 系統に由来する染色体を分子細胞遺伝学的に識別することが可能となった。

第二章では、第 1 章と同様に、A 系統に由来する染色体を分子細胞遺伝学的に識別する FISH プローブ (ManDra-A) の開発に成功した。

第三章では、クロードジョウの起源を解明するため、系統識別プローブを用いて FISH を行った結果、50 本の染色体のうち半数の 25 本で ManDra-B シグナルが検出され、残りの 25 本のうち 12 本の T 型染色体のセントロメア領域に ManDra-A シグナルが検出された。この結果より、クロードジョウが過去における二系統の交雑を起源とすることが分子細胞遺伝学的に証明された。

第四章では、クロードジョウが産出する非還元配偶子のクローン性を担保する減数分裂時の染色体挙動を解明するため、FISH による減数分裂観察を行った。その結果、有性生殖を行う B 系統ドジョウと比べて二倍の数となる 50 本の二価染色体がクロードジョウの卵母細胞および精母細胞で観察された。さらに、対合が元々同じ染色体である姉妹染色体間で行われることが明らかとなった。したがって、クロードジョウでは減数分裂前に全染色体を倍加し、起源の同じ姉妹染色体間で対合することで遺伝的に均一なクローン性配偶子を形成することが分子細胞遺伝学的に証明された。

第五章では、不妊であるクローン由来三倍体と系統間雑種の雄が受精能力を持たない精子を形成するメカニズムを解明するため、対合の成否に注目して減数分裂時の染色体挙動を観察した。その結果、由来の異なる非相同な染色体間では対合不全が高頻度で生じており、多くの一価染色体が観察された。すなわち、対合不全により娘細胞への均等な染色体分配ができず、最終的に様々な染色体数を持つ精子または精子様細胞が形成されると推定された。

以上の細胞遺伝学的な結果は、魚類における特殊な配偶子形成や不妊化の分子機構の解明へ大きく貢献する成果である。また、魚類において、交雑や染色体操作を用いたゲノム構成の制御による配偶子形成の統御技術や育種技術の開発へと応用されることが期待される。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。