



# HOKKAIDO UNIVERSITY

|                     |                                                                                                                                                                                  |
|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title               | メダカ単数体由来の生殖細胞の配偶子形成に関する研究                                                                                                                                                        |
| Author(s)           | 竹内, 萌                                                                                                                                                                            |
| Description         | この博士論文の全文は利用可能日以降に公開されます。利用可能日以前の閲覧方法は <a href="https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/">https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/</a> をご参照ください。 |
| Degree Grantor      | 北海道大学                                                                                                                                                                            |
| Degree Name         | 博士(水産科学)                                                                                                                                                                         |
| Dissertation Number | 甲第16712号                                                                                                                                                                         |
| Issue Date          | 2026-03-25                                                                                                                                                                       |
| DOI                 | <a href="https://doi.org/10.14943/doctoral.k16712">https://doi.org/10.14943/doctoral.k16712</a>                                                                                  |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/99557">https://hdl.handle.net/2115/99557</a>                                                                                                |
| Type                | doctoral thesis                                                                                                                                                                  |
| File Information    | Moe_TAKEUCHI_review.pdf, 審査の要旨 <a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>                                           |



# 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：竹 内 萌

|      |       |         |
|------|-------|---------|
| 審査委員 | 主査 教授 | 水 田 浩 之 |
|      | 副査 教授 | 藤 本 貴 史 |
|      | 副査 助教 | 西 村 俊 哉 |

## 学 位 論 文 題 目

### メダカ単数体由来の生殖細胞の配偶子形成に関する研究

本論文は、魚類単数体由来の生殖細胞の分化・増殖・配偶子形成に関する特性を体系的に解明するとともに、その特性を活用した有用水産系統の早期作出技術の可能性の検討を目的とした研究である。単数体胚は脊椎動物では通常個体として生存できないが、その生殖細胞がどのような運命をたどり、いかなる条件下で配偶子形成能を獲得するのかについては、これまで十分に明らかにされていなかった。本研究では、この未解明な問題を実験モデル魚であるメダカを用いて取り組んだ。

第一章では、*dnd1* および *nanos3* を過剰発現させた単数体胚をドナーとすることで、 $1n-2n$  生殖系列キメラを高効率に作出できることを示した。得られたキメラ個体は雌雄ともに妊性を示し、組織学的解析および倍数性解析から、単数体由来の生殖細胞がゲノム倍加を経て減数分裂に進行し、遺伝的に同一な配偶子を形成することが明らかとなった。これは、単数体由来であっても、生殖細胞としての基本的な分化プログラムが維持されていることを示す重要な知見である。

第二章では、単数体由来生殖細胞におけるゲノム倍加が生じる時期および分化段階について詳細に解析した。その結果、ゲノム倍加は減数分裂開始以前、孵化後 6 日齢までに幹細胞型の分裂を行う初期分化段階の生殖細胞で起こることが示唆された。さらに、幹細胞型分裂から分化型のシスト分裂への移行が阻害された変異体を用いた解析により、同仮説が支持された。これらの結果は、単数体由来生殖細胞が特定の分化段階において独自の細胞周期制御によりゲノム倍加プログラムを発動する可能性を示している。

第三章では、単数体由来生殖細胞の特性をゲノム編集技術と組み合わせることで、複数遺伝子に変異を有する配偶子を効率的に得られることを示した。 $1n-2n$  生殖系列キメラで

は、二倍体個体と比較して低濃度の Cas9 mRNA 条件下でも複数遺伝子変異を含む配偶子が高頻度に得られた。これは、単数体由来生殖細胞における遺伝子改変の高い効率性を示すものであり、実用的価値の高い成果である。

第四章では、単数体胚が発生途中で致死に至る要因を明らかにするため、単数体胚と二倍体胚のトランスクリプトーム解析を行った。その結果、単数体ではヒストン遺伝子、細胞分裂関連遺伝子、密着結合関連遺伝子の相対的な発現低下が認められる一方、アポトーシス関連遺伝子の発現上昇が観察された。これらの知見から、体細胞系列における細胞分裂および形態形成の破綻が、単数体胚の胚性致死に関与することが示唆された。

以上の成果から本論文は、単数体由来生殖細胞が体細胞とは対照的に、初期分化段階においてゲノム倍加を伴う制御機構を作動させることで、アポトーシスや分化異常を回避し、最終的に正常な配偶子形成能を獲得し得ることを示した。また、本研究で提案された単数体由来生殖細胞を活用した手法は、短期間に複数遺伝子変異をホモ接合で固定可能な新規育種技術として、水産分野への応用が強く期待される。

以上の成果から、申請者は単数体由来生殖細胞という独創的な研究対象を通じて、基礎生物学および水産応用研究の双方に顕著な貢献を果たしており、博士（水産科学）の学位を授与するに十分な研究能力および学識を有するものと判定した。