

サバ科雑種宿主によるクロマグロ精子の生産

著者	川村 亘
学位名	博士(海洋科学)
学位授与機関	東京海洋大学
学位授与年度	2020
学位授与番号	12614博甲第559号
URL	http://id.nii.ac.jp/1342/00001991/

【課程博士】 (博士論文審査及び最終試験の結果要旨)

学生氏名：川村 亘

博士論文題目：サバ科雑種宿主によるクロマグロ精子の生産

博士論文審査：申請者から提出された論文について、審査委員と申請者の間で質疑応答が繰り返しなされ、誤記の訂正や表現の修正等が施された。

本研究では、受精卵への処理が不要な不妊化宿主の作出方法として種間交雑に着目し、クロマグロ代理親として利用可能なサバ科魚類の雑種の作出を目的とした。さらに、作出した雑種宿主へクロマグロ生殖細胞を移植することでサバ科雑種宿主からのクロマグロ配偶子生産を目指した。

まずゴマサバ *Scomber australasicus* とマサバ *Scomber japonicus* に着目した。ゴマサバ卵とマサバ精子を用いた人工授精の結果、作出したサバ雑種は通常のゴマサバと同等の孵化率を示し、低温処理三倍体化ゴマサバと比較すると約3倍の孵化率を示した。また、サバ雑種は生殖細胞欠損不妊となることが明らかとなった。続いて、サバ雑種生殖腺のクロマグロ生殖細胞に対する取り込み能を調べた。PKH26 で標識したクロマグロ精巣細胞をサバ雑種仔魚腹腔内へ移植し、14日後に蛍光観察を行った結果、サバ雑種はクロマグロ生殖細胞を高効率で取込むことが明らかになった。

さらに本研究では、以上のサバ雑種における不妊宿主作出の成功例から、スマ *Euthynnus affinis* の種間交雑にも着手した。様々な交配の組み合わせを検討するために、雄親魚候補としてサバ科4属5種を選び、これらの凍結精子を作成した。その後、当研究室で飼育しているスマ雌を人為催熟し、各種凍結精子を用いた人工授精を実施した。その結果、異属間の交配で得られた雑種はすべて致死性を示したのに対し、同属間の交配で得られたスマ×タイセイヨウイト雑種(スマ雑種)は生残性の雑種であることが明らかになった。特に10~19 dph間の生残率はスマ雑種17.3%、スマ11.0%とスマ雑種で高く、19 dphにおける全長はスマ雑種 20.4 ± 0.1 mm、スマ 17.7 ± 0.9 mmであり、雑種が高成長を示した。ただし、スマ雑種1歳齢の生殖腺を観察した結果、一部で異常な精巣を持つ個体が出現したものの、スマ雑種は妊性を保持する雑種であることが明らかになった。

続いて、クロマグロ精巣から調製した精巣細胞を、スマ雑種仔魚の腹腔内へ移植し、タイセイヨウイト雑種がクロマグロ配偶子を生産可能であるか調べた。10ヵ月齢のオスのスマ雑種宿主46尾から採取した精液をクロマグロ精子特異抗体による免疫染色に供し、ドナー由来クロマグロ精子の有無を調べた結果、4/46個体(8.7%)の精液からクロマグロ精子特異抗体陽性の精子が検出された。さらに、PCR解析の結果、1サンプルからクロマグロDNAが検出された。この陽性サンプルにはスマ雑種卵とクロマグロ精子の受精により発生した胚が含まれており、スマ雑種宿主が生産したクロマグロ精子は受精能を有し、卵に発生能を付与できる機能的な精子であることが明らかになった。

最終試験の結果要旨：専門知識については公開發表会(2月10日)当日の質疑や予備審査時での議論を含め十分であると確認した。しかしこの段階では論文が公表されておらず、特別措置を申請していた。最終試験は2020年8月20日に行われた。審査委員一同出席の下、講演発表は国内学会にて4回、国際学会で3回行っていることを確認した。さらに合同セミナーへの出席時間も60時間を越えていることを確認した。国際会議においては英語での質疑応答も問題なくこなしていることから、語学についても問題ないと判断した。また、申請者に対して論文内容についての最終確認のための質疑応答を行い、その内容は十分であった。さらに、学術論文二編が第一著者として公表済みであることを確認した (Suitability of hybrid mackerel (*Scomber Australasicus* × *S. Japonicus*) with germ cell-less sterile gonads as a recipient for transplantation of bluefin tuna germ cells. Kawamura W, Tani R, Yahagi H, Kamio S, Morita T, Takeuchi Y, Yazawa R, Yoshizaki G. *General and Comparative Endocrinology*, 2020 doi: 10.1016/j.ygcn.2020.113525. Online ahead of print; Development of a simple method for sperm cryopreservation of Scombridae fishes in outdoor environments. Kawamura W, Yazawa R, Tani R, Takeuchi Y, Morita T, Yoshikawa H, Yoshizaki G. *Aquaculture Research*, 2020 doi.org/10.1111/are.14673)。以上から、申請者について博士論文審査、最終試験とも合格と判定した。