

TUMSAT-OACIS Repository - Tokyo

University of Marine Science and Technology

(東京海洋大学)

魚類における免疫学的不妊化技術の開発に向けた研究

メタデータ	言語: ja 出版者: 公開日: 2024-05-28 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 高瀬, 研志 メールアドレス: 所属:
URL	https://oacis.repo.nii.ac.jp/records/2000190.1

【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：高瀬 研志

博士論文題目：魚類における免疫学的不妊化技術の開発に向けた研究

博士論文審査：

申請者から提出された論文について公開発表会が2月13日に行われ、審査委員と申請者の間で質疑応答がなされた。審査委員一同、提出された論文が博士論文としての質を十分に確保しているとの結論に至った。論文の内容は以下の通りである。

魚類の新たな不妊化技術を開発することを目的として、自己成分に対する免疫を誘導し生殖腺の発達が阻害されるのかどうかを検討した。第一章では、ニジマスを対象に、生殖腺破砕液を抗原としてアジュバントとともに腹腔内接種した後、本溶液中の成分に対する特異抗体が誘導されるかどうかを解析した。抗原接種後22日目の個体から採取した血漿では、特異的な抗体産生が確認された。しかしながら、特に顕著な抗体価を示した雌雄それぞれ一個体の生殖腺の組織切片を観察したところ、免疫していない個体のもものと比較して顕著な違いは認められなかった。

そこで第二章では、既報の生殖細胞を特異的に認識するマウスモノクローナル抗体(抗GCmAb)をニジマスの腹腔内に投与し、直接異物であるマウス抗体に対する免疫を誘導するとともに本抗体が認識する細胞を排除できるかどうかを解析した。最初の投与から、23、30、および37日後に追加で抗GCmAbを投与し、最初の投与から40日後に血漿および生殖腺を採取した。抗GCmAbはIgMであるため、ニジマスにおけるマウスIgMに対する抗体価を測定したところ、抗GCmAb投与区で特異抗体価の上昇が見られた。しかしながら、生殖腺の組織切片を観察したところ、抗体を投与していない個体のもものと比較して顕著な違いは認められなかった。

ニジマス腹腔内に投与した抗GCmAbが、生殖腺まで到達するかどうかを確認するため、稚仔魚を対象に蛍光標識した抗GCmAbの投与を行った。受精後20日齢の仔魚に投与した場合、接種後28日目で蛍光陽性細胞が生殖腺内に観察され、76日目でも蛍光陽性細胞が確認された。一方、受精後102日目の稚魚に抗体を接種した場合、卵巣では蛍光陽性細胞が見られたものの、精巣では蛍光が観察されなかった。

これらの実験から、抗GCmAbは高分子であるため、腹腔内から生殖腺内へ取り込まれにくい可能性が考えられた。そこで第三章では、より低分子の人工抗体を作出することを目的として、抗GCmAbの可変領域をコードする遺伝子断片を用いた一本鎖可変領域(scFv)組換えタンパク質の作出を試みた。モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマより、抗体重鎖および軽鎖遺伝子の可変領域をクローン化した。得られた断片を元にscFv遺伝子を調製し、大腸菌発現用ベクターに組み込んだ。本ベクターを用いて大腸菌を形質転換した後、組換えscFvを調製し、その性状を解析した。

以上の内容から、学生から提出された博士論文は、国内外の研究の水準に照らし、各研究分野における学術的意義、新規性、独創性及び応用的価値を有していることを審査員一同確認した。

最終試験の結果要旨：

最終試験は2月13日に行われた。博士論文は日本語および英語で書かれており、英語での学会発表経験もあることから、英語の学力についても問題ないと判断した。学術論文は1編が第一著者として公表済み(Takase et al., *Aquaculture* 563, 738931, 2023)であることを確認した。合同セミナーは企業型セミナーを履修していることを確認した。大学院海洋科学技術研究科が指定した研究者倫理教育を修了していることを確認した。大学院海洋科学技術研究科が指定した方法により剽窃のチェックを行った結果、問題は認められなかった。

審査員一同、学生に対して論文内容について質疑応答を行い、その内容は十分であった。また、専門知識については、公開発表会当日の質疑や予備審査時でのディスカッションを含め十分であると審査委員一同確認した。以上のことから、博士論文審査および最終試験を合格と判定した。