TUMSAT-OACIS Repository - Tokyo University of Marine Science and Technology (東京海洋大学)

サバ科雑種宿主によるクロマグロ精子の生産

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2020-11-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 川村, 亘 メールアドレス: 所属:
URL	https://oacis.repo.nii.ac.jp/records/2036

［過程博士・論文博士共通］

博士学位論文内容要旨
Abstract

専　攻 Major	応用生命科学	氏　名 Name	川村　亘
論文題目 Title	サバ科雑種宿主によるクロマグロ精子の生産		

本研究室ではこれまでに、ドナー種から得た生殖幹細胞を宿主となる異種の仔魚腹腔内へ移植し、成熟した異種宿主にドナー由来の機能的な配偶子を生産させる技術を樹立している。この異種間移植技術を応用すれば、大型で成熟までに長期間を要するクロマグロの配偶子を、小型で短期間に成熟するサバ等の近縁種に生産させることが可能となり、クロマグロ種苗生産の大幅な簡略化が実現すると期待される。本移植技術において妊性を保持する宿主を用いた場合、宿主はドナー由来の配偶子よりも宿主自身の配偶子を効率的に生産するため、ドナー由来のクロマグロ配偶子のみを生産するサバを作出するには、宿主の不妊化が必須となる。サケ科魚類での先行研究では不妊化方法として三倍体化や生殖細胞の生存に必須な遺伝子の機能阻害が利用されてきた。しかし、初期減耗が著しいサバ科魚類へこれらの不妊化方法を適用したところ、受精卵への処理が宿主の生残に多大な影響を与え、不妊宿主の大量生産が困難であった。そこで本研究では、受精卵への処理が不要な不妊化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。

まず第 1 章では、種間交雑の組み合わせとしてゴマサバ *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、孵化後の成長や生残も良好であったうえ、サバ雑種はその成長過程で生殖細胞が消失し、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り込むことが明らかになった。以上の結果から、人工授精のみの操作で大量生産が可能なサバ雑種は、生残性かつ生殖細胞欠損不妊であるうえ、クロマグロの生殖細胞を高効率で取り込み可能であることから、宿主として極めて優れた性質を有していることが明らかになった。

本研究ではスマ *Euthynnus affinis* の種間交雑にも着手した。サバよりもクロマグロと遺伝的に近縁なスマの不妊雑種が作出できれば、高効率でクロマグロ配偶子を生産する宿主になることが期待される。そこで本研究では、飼育下のスマのメス親魚から得た卵と様々な近縁種の雄から採取した凍結精子を用いた人工授精によって、様々な組み合わせのスマ雑種を作出する戦略を考えた。しかし、養殖技術が確立されていないサバ科魚種の凍結精子を作製する際は、天然魚を用いた野外や船上での精子凍結作業が必要となる。

そこで第 2 章では、ドライシッパー（DS）を用いた簡便なサバ科魚類の精子凍結法の開発を試みた。まず、マルソウダ *Auxis rochei* を用いて 4 種の希釈液（100% FBS、300 mM トレハロース、1% NaCl、リンゲル液）および 4 条件の凍害保護剤（5%、10%、20% DMSO、10% MeOH）について、解凍後精子の運動性を比較し至適条件を検討した。その結果、凍害保護剤には 10% DMSO

が最適であり、4 種の希釈液で凍結した精子間では運動性に有意な差は認められず、いずれも高い運動性を示した。さらに受精試験の結果、DS で作製した凍結精子は新鮮精子と同等の孵化率を示した。以上の至適化条件により、船上や漁港といった様々な野外環境下でサバ科魚種 6 種（マルソウダ、マサバ、ゴマサバ、カツオ *Katsuwonus pelamis*、コシナガ *Thunnus tonggol*、クロマグロ *Thunnus orientalis*）の凍結精子を作製した結果、いずれの魚種においても 70%以上の高い運動性を保持する凍結精子の作製に成功した。

続く第 3 章では飼育下のスマ雌から得られた卵に対し、3 属 4 種（マルソウダ、カツオ、コシナガ、クロマグロ）の凍結精子を媒精し、交配試験を実施した。その結果、いずれの交配においても凍結精子はスマ卵へ受精し、受精卵が得られたが、マルソウダ雑種およびカツオ雑種はエポボリーの段階で発生が停止し致死性を示した。一方、コシナガ雑種とクロマグロ雑種は孵化仔魚が得られた。しかし、これらの孵化仔魚はワムシの摂餌能を持たず 8dph までにすべての雑種が死亡した。以上の結果から異属間の交配で得られた雑種はすべて致死性を示すことが明かになった。

以上、本研究によってクロマグロの宿主として利用可能なサバ雑種を作出することに成功した。今後は本雑種がクロマグロの配偶子を生産可能であるかを明らかにする予定である。また、サバ科魚類に広く応用可能かつ野外での作業に適した凍結精子作製法を開発し、様々なスマ雑種を作出するための基盤を築いた。これまでのところ生残性のスマ雑種は得られていないが、今後はタイセイヨウヤイト等の同属異種との交配を計画しており、同属で生残性雑種が得られたサバ雑種と同様に生残性のスマ雑種が得られることが期待される。