

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 20 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24248033

研究課題名(和文) チョウザメの生殖統御技術開発のための性分化、卵成長および卵成熟の分子機構解析

研究課題名(英文) Analyses of molecular mechanisms of gonadal sex differentiation, oocyte growth and maturation for the development of techniques on artificial control of reproduction in sturgeons

研究代表者

足立 伸次 (Adachi, Shinji)

北海道大学・水産科学研究科(研究院)・教授

研究者番号：40231930

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 31,700,000円

研究成果の概要(和文)：ロシアチョウザメおよびアムールチョウザメの未分化生殖腺(将来の卵巣または精巣)および卵巣を用いて、分子的性分化期、形態的性分化期、卵成長期および卵成熟期に発現する遺伝子を次世代シーケンサーにより網羅的に解析し、各ステージ特異的発現遺伝子を探索するとともに発現定量した。それら成果を活用し、早期性判別、早期成熟誘導、安定的良質卵生産および全雌生産技術の開発を推進した。

研究成果の概要(英文)：Identification of genes that express by stage specific manner and quantification of their mRNA levels in gonads were conducted throughout the periods of molecular sex differentiation, morphological sex differentiation, oocyte growth and maturation in Russian and Amur sturgeons using a next-generation sequencer. The information obtained from this study was utilized in the application for the development of techniques on sexing in the early developmental stage, induction of sexual maturation in the earlier gonadal developmental stage, production of good quality eggs and production of all female population.

研究分野：魚類生殖生理学

キーワード：チョウザメ 性分化 卵成長 卵成熟能 排卵能 生殖腺刺激ホルモン 次世代シーケンサー 性統御技術

1. 研究開始当初の背景

北海道沿岸で希に捕獲されるチョウザメ類の養殖産業化は極めて有望である。我々は過去 10 数年間、捕獲された天然チョウザメの収集を行ない、生きた状態で入手できたダウリアチョウザメ(カルーガ)、ミカドチョウザメ(標準和名チョウザメ; 国内絶滅種)およびカラム(カルーガとアムールチョウザメの天然交雑種)をはじめとして、9 種 16 雑種、総数約 5,000 尾を北海道大学北方生物圏フィールド科学センター七飯淡水実験所で飼育していた。さらに、2007 年にはカルーガ、2008 年にはミカドチョウザメ、2009 年にはカラム、2010 年にはロシアチョウザメの国内初の人工繁殖および各種交雑種の作出に成功し、チョウザメ養殖産業化のための基礎を築いていた。

チョウザメ養殖では、キャビアを産する雌のみを生産できない、外観から雌雄判別は難しい、成熟までに長期間を要する、良質卵を得られることが少ないことなどが課題である。従って、全雌生産、早期性判別、早期成熟誘導および安定的良質卵生産などの生殖統御技術を確立することはチョウザメ類の養殖産業化のためには必須である。しかし、生殖統御技術開発を行なう上で基盤となるチョウザメ類の性分化、卵成長および卵成熟の分子機構は多くが未知であった。

一般に、魚類の生殖腺の性分化において、雌化(卵巣形成)にはエストロゲン(雌性ホルモン)生成が必須であり、雄化(精巣形成)にはエストロゲンが存在しないことが必要であることが知られている。すなわち、生殖腺の形態的性分化開始以前に遺伝子発現の性分化(分子的性分化)が雌雄特異的に起こるのであり、それぞれに関わる因子もいくつか知られている。しかし、チョウザメ類については、この過程の詳細な解析はほとんど進んでいなかった。我々は、オオチョウザメ(ペルーガ)とコチョウザメの交雑種ベステルの性分化過程を組織学的に観察し、外因性エストロゲンとアンドロゲンにより性統御が可能であることおよび雌性発生魚でも雄が出現することを明らかにしていた。また、アムールチョウザメを用いて、性分化関連因子のエストロゲン受容体、転写因子の *foxl2* および *dmrt1* の cDNA クローニングはすでに行なっていた。しかし、他魚種で知られるその他の性分化関連因子(転写因子、成長因子や各種ステロイド合成酵素)については、cDNA クローニングすら行なわれていなかった。

魚類の卵成長期は 1 次成長期と 2 次成長期に大別され、さらに 2 次成長期は前卵黄形成期と卵黄形成期に区別されるが、チョウザメ類の場合、2 次成長を開始するのにコチョウザメで 2-3 年、ベステルで 7-8 年、ペルーガやカルーガでは 15-20 年要する。従って、長期に及ぶ 1 次成長期の大幅な短縮が望まれる。また、チョウザメ類の場合、卵黄形成にも時間がかかり、通常 2-4 年要する。我々は、卵成長関連因子として、脳下垂体に発現する 2 種の生殖腺刺激ホルモン(濾胞刺激ホルモン: FSH; 黄体形成ホルモン: LH) および成長ホルモン(GH) の cDNA クローニングと抗体作製は行なっていた。しかし、卵巣や肝臓に発現するその他卵成長関連因子については、cDNA クロー

ニングすら行なわれておらず、分子機構解析は全く行なわれていなかった。

卵母細胞が卵黄形成を完了し、卵成熟過程に入ると、卵母細胞は卵成熟誘起ステロイドホルモン(MIS)の刺激により受精可能な成熟卵となり排卵される。ニホンウナギを用いた生体外卵濾胞培養実験から、卵成熟過程に先立ち、卵母細胞が MIS の刺激により卵成熟し得る能力(卵成熟能)を獲得した後に、遅れて卵濾胞が MIS の刺激により排卵し得る能力(排卵能)を獲得する事が示唆されていた。しかし、チョウザメ類については、これらの能力の周年変化と卵質との関係を調べた例は少なく、排卵能獲得の分子機構については全く不明であった。チョウザメ類の場合、卵成熟および排卵は飼育下では起こらず、ホルモン注射によってのみ誘導可能である。しかし、個体によってはホルモン注射の適期が短く、良質卵を得られないことが多い。従って、卵成熟能獲得から排卵に至る過程および排卵前の退行や過熟化の分子機構の解明が望まれていたが、チョウザメの場合、これら現象の解析はほとんど行なわれていなかった。

2. 研究の目的

そこで本研究では、チョウザメの性分化、卵成長、卵成熟および排卵に関わる因子を、最近技術革新された次世代シーケンサー(NGS)を用いて網羅的に解析することで、それらの機能、特異性および動態などの膨大な情報を短期間で集積し、これまでは 10 数年かかると考えられてきた基盤整備を一気に行なうとともに、各ステージに特徴的な多数の分子マーカーを探索し、それらを利用して、全雌生産、早期性判別、早期成熟および安定的良質卵生産技術の確立を推進することを目的とした。

3. 研究の方法

チョウザメ純系種の未分化生殖腺および卵巣を用いて、分子的性分化期、形態的性分化期、卵成長期および卵成熟期に発現する遺伝子を NGS により網羅的に解析し、各ステージ特異的発現遺伝子を特定するとともに発現定量した(分子機構解析研究)。それら分子マーカーを利用し、遺伝的性判別、早期成熟誘導、安定的良質卵生産およびすべての結果を結集した全雌生産技術の開発(生殖統御技術開発研究)を推進した。

(1) 分子機構解析研究

供試魚としてロシアチョウザメおよびアムールチョウザメを用いた。未分化生殖腺の発現遺伝子を NGS 解析し、EST データベースを構築した。それらの中から得られた性分化関連遺伝子を同定し、完全長 cDNA をクローニングし、生殖腺の発達に伴うそれらの発現変化を調べた。

卵成長期の卵巣の NGS 解析データからは卵巣発達に関わる ZP 様卵膜関連遺伝子および細胞外基質関連遺伝子の同定を行なった。また、

雌肝臓における NGS 解析を行ない、卵黄前駆タンパク (ピテロゲニン: Vtg) を探索した。

さらに、ベストルにおける卵成熟能および排卵能の季節的变化を生体外卵濾胞培養実験により調べた。また、排卵能獲得の分子機構を解明するため、コチョウザメを用いて、NGS 解析により排卵能獲得前後に発現増加する遺伝子を探索した。

(2) 生殖統御技術開発研究

早期成熟個体の作出には選抜育種や染色体操作を含む交雑あるいは異種間生殖細胞移植 (借腹養殖) が有効である。そこで、可能な限り純系種および交雑種を作成し、早期成熟雄個体を選抜した。また、可能な限り雌性発生魚も作出した。これら交雑種の倍数性および妊性を確認した。さらに、得られた受精卵 (尾芽胚) から始原生殖細胞を単離し、異種胚に移植した。

チョウザメ類は ZZ/ZW 型性決定をすることが示唆されており、我々は、数種のチョウザメで遺伝的雌 (ZW) の雄化処理 (偽雄づくり) はすでに行なっていた。また、雌性発生のベストル雌親も有していた。これら偽雄候補および雌性発生魚を用いて授精を行ない、子孫第 1 世代をさらにアンドロゲン処理することで WW 超雌偽雄の作出を目指した。

加えて、分子機構解析研究で得られた成果を活用し、新たな採卵適期推定法を開発した。

4. 研究成果

(1) 分子機構解析研究

ロシアチョウザメおよびアムールチョウザメの形態的未分化生殖腺 EST データベースからこれまで得られていなかったステロイド合成酵素 (*cyp11a1*, *hsd3b*)、転写因子 (*dmrt* ファミリー) および増殖因子 (*gsdf*, *amh*) など 46 個の性分化関連遺伝子の部分配列を得た。それら多くはチョウザメ類では初の獲得である。孵化後 4 カ月前後の形態的未分化生殖腺では、*foxl2*, *cyp19a1a* および *hsd17b1* 発現の二型性がみられた。そのうち将来雌雄間に発現差がみられたのは *rspo1*, *wnt* ファミリー遺伝子など 14 個であった。また、多数の将来雌特異的発現遺伝子の部分配列が得られ、そのうち 189 個が既知遺伝子と相同性を示し、うち 25 個が転写因子、16 個が細胞増殖関連遺伝子であった。これらは形態的卵巣分化を誘導する遺伝子群と推察された。一方、*gsdf* は孵化後 9 カ月前後の形態的未分化生殖腺ではじめて二型性がみられた。また、性分化関連遺伝子の発現量比較から判断された将来卵巣 (雌) および将来精巣 (雄) における NGS リード数比較の結果、雌特異的発現配列が数千個選抜された。それらを BLAST 解析によって翻訳領域をコードしていると予測される 300 個程度の配列に絞り込んだ。それら性決定遺伝子候補配列について、ゲノムにおける性連鎖性の検証を行なったが、性連鎖性は確認されなかった。今後は、より早期の形態的未分化生殖腺を用いた発現解析、性分化関連遺伝子の変異解析および SNP マーカーによるゲノム連鎖解析、性分化関連遺伝子プロモーター領域

の変異解析を行なう必要がある。

次に、アムールチョウザメの卵成長期の卵巣を用いて、EST データベースを構築し、各種ステロイド合成酵素、GTH 受容体、卵膜形成に関与する少なくとも 3 種の Zona Pellucida glycoprotein (ZP タンパク) および I 型コラーゲン $\alpha 1$ 鎖 (*colla1*) と $\alpha 2$ 鎖 (*colla2*)、II 型コラーゲン $\alpha 1$ 鎖 (*col2a1*)、ピグリカン、デコリン、ルミカン、コンドロアドヘリン、オステオグリン、フィブロモジュリンを含む細胞外基質関連遺伝子など卵成長および卵巣発達関連遺伝子の配列を得た。卵成長期の卵濾胞における ZP 様卵膜関連遺伝子群の mRNA 量を測定した結果、油球形成前期から卵黄形成後期にかけて減少傾向がみられた。

また、アムールチョウザメ肝臓の EST データベースも構築し、3 種類の卵黄前駆タンパク質 (ピテロゲニン: Vtg) の存在を明らかにし、それぞれ *vtg/VtgAB1*, *vtg/VtgAB2a* および *vtg/VtgAB2b* と命名した。エストラジオール-17 β (E2) 処理したアムールチョウザメの肝臓における 3 型 *vtg* mRNA 発現変化を定量した結果、発現量はいずれも E2 処理濃度に依存して高く、各 *vtg* サブタイプとの量的関係は、*vtgAB2a* \geq *vtgAB1* > *vtgAB2b* となり、*vtgAB2b* はマイナーなサブタイプと考えられた。また、ベストル卵巣および E2 処理血清から、様々な手法を用い Vtg の精製を試みた。その中でも、免疫吸着カラム由来の精製 Vtg は免疫化学的に一分子種として高度に精製され、LC-MS/MS 解析の結果、*VtgAB2b* を主要な構成成分とすることが示唆された。*VtgAB1* および *VtgAB2a* の断片配列をコードする組換えタンパク質を作製し、それらに対する抗体を作製した結果、抗体は各 *Vtg* サブタイプ抗原に特異的であり、また E2 処理血清中の異なる Vtg を検出した。これらは雌雄判別や性成熟度判定に用いる有力ツールとなった。

さらに、卵成熟能および排卵能の季節的变化を生体外卵濾胞培養実験により調べた。その結果、7 月から 8 月にかけて初めて卵成熟能を有する卵母細胞が現れた。卵径および組織学的観察の結果から、これらの月の卵母細胞は卵成長完了前であると考えられた。本研究の結果は、卵成熟過程に進行するための準備は卵黄形成完了前に誘導され始めることを示しており、これは他魚種では全く報告が無い新知見である。卵成熟能は 5 月までほとんどの卵母細胞で維持されており、季節的な変化は認められなかった。一方、排卵能は個体ごとに獲得の変化傾向が異なったが、多くの個体で 4-5 月に排卵能が獲得されるのに加え、一部の個体で 10-1 月にも排卵能を有していた。このことから、排卵能を指標とすることで、春だけではなく、秋採卵も可能であることが示された。

続いて、排卵能獲得の分子機構を解明するため、生体外で排卵能獲得誘導したコチョウザメ卵濾胞、あるいはその対照群を準備し、各群から EST データベースを構築した。両群間で発現量差の大きい遺伝子を選抜した結果、*rasd1*、

nr4a1, *star* 等の遺伝子が排卵能関連遺伝子の候補として同定された。続いて、両種の EST データベースから他魚種で既知の排卵関連遺伝子を探索し、排卵能を有する卵濾胞において発現量が高い遺伝子を選抜した。その結果、コチョウザメでは 5 遺伝子を選抜され、その内、コラゲナーゼである *mmp9* およびプロスタグランジン (PG) に関与する *ptgs2* に関しては、排卵能が獲得された月にベステル濾胞組織における両遺伝子発現が急増した。従って、両遺伝子発現を指標とした採卵適期推定法を確立できることが示唆された。

(2) 生殖統御技術開発研究

純系種および交雑種の作出については、アムールチョウザメおよびシロチョウザメの採卵、授精に成功した。また、カラムの採卵に成功し、新たにカラムトラ (カラム × シロチョウザメ)、カラムミカド (カラム × ミカドチョウザメ)、トラカル (シロチョウザメ × ダウリアチョウザメ)、ベストラ (ベステル × シロチョウザメ) およびベストラ三倍体が作出できた。雌性発生魚については、少数ではあるが、カラムおよびベステル雌性発生魚の作出にも成功した。さらに、本研究開始以前に作出された2009年産雄化処理カラム (カラム × アムールチョウザメ) および2010年産カルミカ (カルーガ × ミカドチョウザメ) の早期成熟雄個体から採精に成功し、アムカラマム (アムールチョウザメ × カラム)、カラムカルミカ (カラム × カルミカ)、カラムカラマム (カラム × カラム)、トラカルミカ (シロチョウザメ × カルミカ) の作出にも成功した。すなわち、これら子孫の中には早期成熟形質を有する個体が存在している可能性がある。特に、親魚として使用した雄化処理カラムが偽雄 (遺伝的雌) であれば、その子孫であるアムカラマムおよびカラムカラマムの中には超雌が含まれている可能性がある。さらに、カラムカラマムについては、雄化処理個体も生存しており、それらの中には超雌偽雄が存在している可能性があり、今後の全雌生産に寄与することが期待される。いずれにしても、それら個体の遺伝的性判別が可能になることが望まれる。

チョウザメ類では染色体倍数性変異によりゲノムサイズが異なるグループが存在している (例えば、グループA: DNA量 約4 pg/体細胞核、オオチョウザメ、コチョウザメ、ベステル; グループB: DNA量 約8 pg/体細胞核、シロチョウザメ)。また、ベステルなどのゲノムサイズが同じ種間の雑種二倍体は妊性を持つが、三倍体は雌が不妊となることが知られている。カルーガ、アムールチョウザメ、ミカドチョウザメ、ロシアチョウザメについて、DNA量を計測したところ約8-9 pg/体細胞核であったことから、これらの種はグループBであることが確認された。

さらに、ゲノムサイズが異なる種間の雑種二倍体では卵巣発達が見られないという結果も得ていることから、本研究では、グループAのベステルとグループBのシロチョウザメ雑種 (ベストラ) 二倍体および第2極体放出阻止 (圧力処理) により作出された雑種三倍体を用いて、卵巣の組織学

的観察により、その妊性を推定した。その結果、雑種二倍体のDNA量は約6 pg、圧力処理群では約8 pgであったことから、雑種三倍体の誘起が確認された。雑種三倍体では雄の出現率が非常に低いに加え、雌雄不明個体が多くみられた。雌では、雑種二倍体では周辺仁期まで発達した卵母細胞はほとんどみられなかったのに対し、雑種三倍体では周辺仁期まで発達した卵母細胞を有していた。また、二倍体では性比ほぼ1:1であったのに対し、三倍体では雌に偏る傾向がみられた。以上の結果、ゲノムサイズが異なる雑種二倍体雌個体は不妊となるが、雑種三倍体は妊性を有することが世界で初めて示唆されるとともに、染色体操作によるチョウザメ新品種作出の可能性が示された。

可視化したチョウザメ始原生殖細胞 (PGC) の分離方法を検討した結果、尾芽胚の植物半球に細胞移植針を挿入し吸引することで、植物極の割球を採取できた。しかし、PGCsが分布する尾芽周辺から移植針の挿入による割球採取は困難であった。また、採取された割球を異種胚に移植したところ、キンギョでは、ある程度始原生殖細胞が追跡できたが、チョウザメ類では、移植された胚の生存率が極端に低く、他魚種とは異なる結果となったことから、チョウザメ類の借腹養殖については、さらなる検討が必要であると思われた。

さらに、排卵能獲得の傾向とホルモン注射により得られた卵の卵質との関係を調べたところ、排卵能が上昇する傾向にある月に採卵した個体からは良質卵を得られることが多かった。これらの結果を受け、排卵能を指標として採卵適期の推定を行なった結果、以前より安定的良質卵生産が可能となった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計4件)

1. 前 林衛, 稲岡雄平, 吉田達哉, 萩原聖士, 西宮 攻, 薙平裕次, 足立伸次, 原 彰彦, 東藤 孝, 平松尚志. アムールチョウザメ *Acipenser schrenckii* の多型ピテロジェニン遺伝子のcDNAクローニング 水産増殖. 査読有. 64(1): 63-76. 2016.
2. Hagihara S, Yamashita R, Yamamoto S, Ishihara M, Abe T, Ijiri S, Adachi S. Identification of genes involved in gonadal sex differentiation and the dimorphic expression pattern in undifferentiated gonads of Russian sturgeon *Acipenser gueldenstaedtii* Brandt & Ratzeburg, 1833. Journal of Applied Ichthyology. 査読有. 30(6) 1557-1564. 2014. DOI: 10.1111/jai.12588
3. Ishihara M, Tokui B, Abe T, Ijiri S, Adachi S. Seasonal changes in oocyte maturational competence and ovulatory competence in bester sturgeon (*Huso huso* × *Acipenser ruthenus*). Journal of Applied Ichthyology. 査

読有. 30(6) 1141–1148. 2014.

DOI: 10.1111/jai.12579

4. Saito T, Pšenička M, Goto R, Adachi S, Arai K, Yamaha E. The origin and migration of primordial germ cells in sturgeons. PLoS One. 査読有. 9(2) e86861. 2014.
DOI: 10.1371/journal.pone.0086861

〔学会発表〕(計 30 件)

1. 萩原聖士, 須山喜市, 東典子, 堤尚信, 西尾朋高, 市村政樹, 三坂尚行, 鈴木渉太, 宮城大助, 古市明文, 市川卓, 松原創, 川崎琢真, 宗原弘幸, 高橋英祐, 山羽悦郎, 井尻成保, 足立伸次. 北海道沿岸における 2015 年のチョウザメ科魚類の異常漁獲および生殖腺の特徴. 平成 28 年度日本水産学会春季大会. 2016 年 3 月 27 日. 東京海洋大学品川キャンパス (東京都港区).
2. 松原薫子, 石野魁盛, 萩原聖士, 後藤直英, 山本真也, 井尻成保, 足立伸次. 次世代シーケンサを用いたアムールチョウザメの未分化生殖腺における網羅的発現解析. 平成 28 年度日本水産学会春季大会. 2016 年 3 月 27 日. 東京海洋大学品川キャンパス (東京都港区).
3. Hiramatsu N, Todo T. Molecular mechanisms underlying yolk formation in fish: how to make the tailor-made yolk? 1st International conference on quaternary and future earth: harmonious coexistence of ocean and humans. January 7–8th, 2016. National Taiwan Ocean University. Keelung, Taiwan.
4. 足立伸次. 北海道産チョウザメ養殖産業化の現状と展望. 平成 27 年度日本水産学会水産増殖懇話会第 2 回講演会. 2015 年 9 月 25 日. 東北大学川内キャンパス (宮城県仙台市).
5. 高柳耀, 萩原聖士, 宮本真先, 藤本貴史, 井尻成保, 山羽悦郎, 足立伸次, 荒井克俊. チョウザメ雑種 2 倍体および 3 倍体の妊性推定. 平成 27 年度日本水産学会春季大会. 2015 年 3 月 28 日. 東京海洋大学品川キャンパス (東京都港区).
6. 鈴木俊彦, 萩原聖士, 石原学, 井尻成保, 足立伸次. アムールチョウザメ卵母細胞の第 2 次成長開始マーカー遺伝子の探索. 平成 26 年度日本水産学会北海道支部大会. 2014 年 12 月 19 日. 函館市国際水産・海洋総合研究センター (北海道函館市).
7. 後藤直英, 山下量平, 石野魁盛, 山本真也, 萩原聖士, 井尻成保, 足立伸次. ロシアチョウザメの形態的未分化生殖腺における *gsdf* の発現. 平成 26 年度日本水産学会北海道支部大会. 2014 年 12 月 19 日. 函館市国際水産・海洋総合研究センター (北海道函館市).
8. 萩原聖士, 石原学, 山下量平, 鈴木俊彦, 井尻成保, 足立伸次. 次世代シーケンサーによるチョウザメ類の生殖腺 EST データベースの構築. 平成 26 年度日本水産学会秋季大会. 2014 年 9 月 20 日. 九州大学箱崎キャンパス (福岡県福岡市).
9. 石野魁盛, 萩原聖士, 山下量平, 山本真也, 後藤直英, 井尻成保, 足立伸次. ロシアチョウザメの未分化生殖腺における *hsd17b1* の発現. 日本動物学会北海道支部第 59 回大会. 2014 年 8 月 23 日. 函館市国際水産・海洋総合研究センター (北海道函館市).
10. Hagihara S, Yamashita R, Yamamoto S, Goto N, Ijiri S, Adachi S. Expression analysis of sex differentiation-related genes in morphologically undifferentiated gonads of Russian sturgeon, and challenge to identify female-specific DNA marker. Hokkaido-Singapore Symposium on Food Science and Biotechnology 2014. June 3rd, 2014. Hakodate Research Center for Fisheries and Oceans (Hakodate, Hokkaido).
11. Ishihara M, Tokui B, Abe T, Ijiri S, Adachi S. Indicators for artificial induction of ovulation in bester sturgeon (*Huso huso* × *Acipenser ruthenus*). Hokkaido-Singapore Symposium on Food Science and Biotechnology 2014. June 3rd, 2014. Hakodate Research Center for Fisheries and Oceans (Hakodate, Hokkaido).
12. Hiramatsu N, Todo T, Sullivan CV, Reading BJ, Matsubara T, Ryu YW, Mizuta H, Luo W, Nishimiya O, Wu M, Mushiobira Y, Hara A. Ovarian yolk formation in fishes: molecular mechanisms underlying formation of lipid droplets and vitellogenin-derived yolk proteins. 10th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish. May 25–30th, 2014. Olhao Municipal Auditorium. Olhao, Portugal.
13. 山本真也, 後藤直英, 萩原聖士, 井尻成保, 足立伸次. *gsdf* 抗体を用いたチョウザメ類の未分化生殖腺の免疫組織化学的観察. 平成 26 年度日本水産学会春季大会. 2014 年 3 月 30 日. 北海道大学函館キャンパス (北海道函館市).
14. 萩原聖士, 山下量平, 山本真也, 後藤直英, 井尻成保, 足立伸次. 次世代シーケンサーを用いたロシアチョウザメの未分化生殖腺における性分化関連遺伝子の発現解析. 平成 26 年度日本水産学会春季大会. 2014 年 3 月 28 日. 北海道大学函館キャンパス (北海道函館市).
15. 萩原聖士, 東典子, 井尻成保, 足立伸次. *Acipenser medirostris* とされている北日本に來遊するチョウザメ属魚類は *A. mikadoi* である. 平成 26 年度日本水産学会春季大会. 2014 年 3 月 28 日. 北海道大学函館キャンパス (北海道函館市).
16. Ijiri S, Hagihara S, Yamashita R, Suzuki H, Adachi S. Dimorphic expression pattern of sex differentiation-related genes in morphologically undifferentiated gonads of Amur sturgeon and Russian sturgeon.

- Diversification in Inland Finfish Aquaculture II. September 24th, 2013. University of South Bohemia. Vodnany, Czech.
17. Hiramatsu N, Mizuta H, Luo W, Nishimiya O, Wu M, Mushirobira Y, Reading JB, Sullivan VC, Todo T, Hara A. Yolk formation in fish: multiple vitellogenins and their receptors. Diversification in Inland Finfish Aquaculture II. September 24th, 2013. University of South Bohemia. Vodnany, Czech.
 18. 萩原聖士, 山下量平, 山本真也, 後藤直英, 井尻成保, 足立伸次. ロシアチョウザメの未分化生殖腺における性分化関連遺伝子の発現. NGS 現場の会第三回研究会. 2013年9月4日. 神戸国際会議場 (兵庫県神戸市).
 19. Hagihara S, Yamashita R, Yamamoto S, Ijiri S, Adachi S. Identification of genes involved in gonadal sex differentiation and the dimorphic expression pattern in undifferentiated gonads of Russian sturgeon *Acipenser gueldenstaedtii*. 7th International Symposium on Sturgeon. July 24th, 2013. Vancouver Island Conference Center. Nanaimo, Canada.
 20. Ishihara M, Tokui B, Abe T, Ijiri S, Adachi S. Seasonal changes in oocyte maturational competence, ovulatory competence and gonadotropin sensitivity of ovarian follicles in hybrid sturgeon, bester (*Huso huso* x *Acipenser ruthenus*). 7th International Symposium on Sturgeon. July 24th, 2013. Vancouver Island Conference Center. Nanaimo, Canada.
 21. Zhou H, Gao J, Ishihara M, Adachi S, Arai K. Possible fertility of a genetic triploid *Acipenser transmontanus*. 7th International Symposium on Sturgeon. July 24th, 2013. Vancouver Island Conference Center. Nanaimo, Canada.
 22. Zhou H, Fujimoto T, Adachi S, Yamaha E, Arai K. Spontaneous elevation and decrease of ploidy status in artificially propagated progenies of conspecific and hybrid sturgeons. 7th International Symposium on Sturgeon. July 23rd, 2013. Vancouver Island Conference Center. Nanaimo, Canada.
 23. Zhang X, Ura K, Adachi S, Takagi Y. Biochemical characterization and assessment of fibril-forming ability of sturgeon collagens - potential new products for food, cosmetics and medical industries. 7th International Symposium on Sturgeon. July 22nd, 2013. Vancouver Island Conference Center. Nanaimo, Canada.
 24. 石原 学, 徳井文平, 安部智貴, 井尻成保, 足立伸次. ベステルチョウザメ卵濾胞の排卵能獲得に及ぼす生殖腺刺激ホルモンの影響. 平成 25 年度日本水産学会春季大会 2013 年 3 月 27 日. 東京海洋大学品川キャンパス (東京都港区).
 25. 後藤直英, 山下量平, 白瀧将人, 鈴木初美, 萩原聖士, 井尻成保, 足立伸次. ロシアチョウザメの形態的未分化生殖腺における卵巣形成関連遺伝子の発現解析. 平成 25 年度日本水産学会春季大会 2013 年 3 月 27 日. 東京海洋大学品川キャンパス (東京都港区).
 26. 周 賀, 藤本貴史, 山羽悦郎, 足立伸次, 荒井克俊. チョウザメ類のゲノムサイズとマイクロサテライト DNA マーカーから推定した倍数性. 平成 25 年度日本水産学会春季大会. 2013 年 3 月 27 日. 東京海洋大学品川キャンパス (東京都港区).
 27. 萩原聖士, 山下量平, 泉 ひかり, 井尻成保, 足立伸次. チョウザメの性決定遺伝子・ウナギの卵質を規定する母性 RNA の探索 次世代シーケンサーを用いた挑戦への展望. 第 4 回生命情報科学若手の会研究会. 2013 年 3 月 1 日. 基礎生物学研究所 (愛知県岡崎市).
 28. 徳井文平, 石原 学, 安部智貴, 井尻成保, 足立伸次. ベステルチョウザメの卵成熟能および排卵能の季節的变化. 平成 24 年度日本水産学会北海道支部会. 2012 年 12 月 15 日. 東京農業大学オホーツクキャンパス (北海道網走市).
 29. 石原 学, 徳井文平, 安部智貴, 井尻成保, 足立伸次. チョウザメ卵成熟能および排卵能の経時的变化. 日本水産増殖学会第 11 回大会 2012 年 11 月 8 日. 長崎大学 (長崎県長崎市).
 30. 山下量平, 白瀧将人, 鈴木初美, 井尻成保, 足立伸次. ロシアチョウザメの分子的性分化期における卵巣関連遺伝子の発現. 日本水産増殖学会第 11 回大会. 2012 年 11 月 8 日. 長崎大学 (長崎県長崎市).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

足立 伸次 (ADACHI, Shinji)

北海道大学・大学院水産科学研究院・教授
研究者番号: 40231930

(2) 研究分担者

荒井 克俊 (ARAI, Katsutoshi)

北海道大学・大学院水産科学研究院・教授
研究者番号: 00137902

都木 靖彰 (TAKAGI, Yasuaki)

北海道大学・大学院水産科学研究院・教授
研究者番号: 10212002

平松 尚志 (HIRAMATSU, Naoshi)

北海道大学・大学院水産科学研究院・准教授
研究者番号: 10443920

山羽 悦郎 (YAMAHA, Etsuro)

北海道大学・北方生物圏フィールド科学
センター・教授

研究者番号: 60191376

井尻 成保 (IJIRI, Shigeho)

北海道大学・大学院水産科学研究院・准教授
研究者番号: 90425421