

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 19 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24380099

研究課題名(和文) 雑種ゲノムの発生工学的解析による育種利用に関する研究

研究課題名(英文) A study of primordial germ cells in inter-species hybrid by germ-line chimera

研究代表者

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、植物における胚珠培養に相当する、「致死性雑種からの配偶子誘導」が魚類で可能であることを明らかにすることを目標として研究を行った。ラスボラ亜科、コイ亜科の魚種を材料とし、2種間の雑種二倍体、雑種三倍体、および複二倍体を誘導し、それらの生残性や始原生殖細胞(PGCs)の分化を明らかにするとともに、不妊化宿主へ移植して生殖系列キメラを作成してPGCsの分化の解析を行った。また、雑種両種の生殖細胞質を有するPGCsを誘導するために、生殖細胞質の分離を試みた。誘導した様々なゲノム構成をもつ雑種は、PGCsを分化させることが明らかとなった。作成したキメラ個体での配偶子形成の確認には至らなかった。

研究成果の概要(英文)：In plant breeding, viable individuals have been established by ovule culture from sterile hybridization. In this study, in vivo cultivation has been examined in order to elucidate gamete differentiation from primordial germ cells (PGCs) with several genomic combinations between two different species. Nine teleost species belonging Cyprinidae were used as the materials. Development, ploidy and differentiation of PGCs were investigated in 11 inter-specific or inter-subfamilial hybrids. Allo-diploid (diploid hybrid), allo-triploid (triploid hybrid) and amphidiploid (tetraploid hybrid) individuals were induced by hybridization and subsequent duplication of genomic combination, 2nd polar body retention or 1st cleavage inhibition. PGCs differentiated in almost all hybrids examined. When isolated and transplanted to the host goldfish blastulae, PGCs from hybrids migrated to the host genital ridge. Proliferation and differentiation of PGCs have not been clarified in the chimeric fish.

研究分野：魚類発生工学

キーワード：始原生殖細胞 生殖系列キメラ 生殖細胞質 雑種 魚類 ラスボラ亜科

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 植物においては、種間・属間を含む様々な雑種を、品種の樹立に利用している。受粉と結果が可能な種間雑種は、様々な経済的形質に関わる遺伝子の取り込みに用いられる。受粉は可能だが「雄性不稔(花粉形成の不全)」の見いだされた雑種では、その原因となる「雄性不稔因子(CMS)」を、自家受粉型の植物(米など)のハイブリッド(F1)種子生産に利用している。また、遠縁種の雑種で種子が発芽しない雑種であっても、受精卵を体外で培養(胚珠培養)することにより、新しい品種の誘導(ユリ、ボタンなど)が行われている。このように雑種とは、様々な応用可能なゲノム構成、細胞質構成を持つ細胞なのである。

(2) 体外受精の魚類では、様々な組合せで雑種が作られている。正常に発生する近縁種の雑種の場合、その不妊性や、耐病性の向上を利用して品種の育成が行われている。しかし、不妊化機構の解析は進んでいない。また一方で、雑種の多くは奇形で致死的となり、育種学的な価値はないと考えられてきた。個体が生き残らないので、配偶子が得られず、それを利用する育種が不可能だったからである。

(3) 研究代表者らは、致死の半数体が生殖細胞の元となる始原生殖細胞 PGC を持ち、これを生残性の個体の生殖腺で培養することで、半数体由来する配偶子を誘導することにゼブラフィッシュなど数種で成功している(特許:PCT/JP2011/052772)。このことは、対合する相同染色体が無くても、配偶子形成以前にゲノムの倍加が起こり、減数分裂が正常に進む場合があることを示している。この結果は、動物でも「花粉培養」に相当する育種が可能であることを示している。PGC は、卵割の過程で母系の細胞質を受け継いだ割球から生じるので、致死性の雑種であっても PGC を有することとなる。したがって、雑種の両親種のどちらかに移植することで、致死性雑種の PGC を *in vivo* で培養可能と考えられる。さらに、半数体 PGC と同様に、対合する相同染色体が無くても配偶子を分化させる可能性がある。すなわち、動物で「薬培養」に相当する育種ができる可能性がある。

(4) 一方、近縁種間の生残性の雑種(*Peciliopsis monacha*と*lucida*など)では、父方のゲノムの排除が起こり母方のゲノムだけで卵ができる雑種発生(hybridogenesis)が知られている。この卵は母方のゲノムをそのまま持つため、次の世代は母方のゲノムが共通したヘミクローン集団を形成する。さらに、研究分担者は、遺伝的に系統の異なる cryptic なドジョウ 2 集団間の「雑種」がクローン子孫を生み出すことを示した(Yamada et al.,

2015)。これらのことは、近縁な 2 種の雑種の PGC を *in vivo* で培養した場合、雑種発生によるヘミクローンやクローン集団を誘導できる可能性がある。さらに、この雑種発生現象そのものも、この系を利用して解析できる可能性もある。その他、複数の PGC を移植することも可能なので、配偶子へ分化するゲノムを持つ PGC のみを *in vivo* で選別することも可能と考えられる。すなわち、この実験系は、植物における胚珠培養を、動物で可能とする手法で、致死となる組合せのゲノム構成を持つ生殖系列細胞の配偶子形成を解析しうるツールである。

(5) コイ目内では様々な組合せの雑種が報告され、ほとんどが致死性雑種であるが、それらの雑種の胚で PGC が分化するか否かについては調べられていない。雑種胚で分化した PGC が、両親種へ移植された時に配偶子に分化するかも不明である。申請者の予備的な研究では、科の異なるキンギョとドジョウの間の正逆交雑では、どちらも致死となるものの、PGC は形成されることが明らかになっている。この PGC を両親種の胚に移植すると、生殖腺へ移動するものの増殖は出来ずに消失する。その原因は不明であるし、これらより近縁の致死性雑種で同様な現象が起こるかどうかも明らかではない。一方、キンギョとコイの雑種は生残性であるものの、雄は不妊となることが報告されている。不妊を誘導する細胞質因子の存在が推定されるが、解析はされていない。このように、雑種での PGC の分化、雑種 PGC の生体内での培養による配偶子分化の可否とその原因、不妊雑種 PGC の不妊化の原因などの、育種の素材としての可能性を秘めた現象が全く研究されていないのである。

(6) この理由として、雑種でおこる様々な原因を解析する手段がなかったことがあげられる。現在の申請者らが持つ手法を用いるならば、雑種の PGC が増殖し配偶子へ分化するかどうかは、雑種 PGC をその両親種のどちらかの胚へ移植して生体内で培養することで確かめることが可能である。もし、雑種 PGC が宿主生体内で増殖をおこなうのであれば、ゲノム間、核細胞質間の相互作用の生殖細胞形成への関与を調べる重要なツールとなりうる。

## 2. 研究の目的

(1) 近縁、遠縁種間の雑種を誘導し、それらの PGC の分化を明らかにするとともに *in vivo* で培養し、配偶子分化が起こるかを明らかにすること。

(2) 致死性であるゼブラフィッシュとキンギョの種間雑種 PGC を用い、そのゲノム構成・細胞質構成を実験的に変更した後、親種の生殖腺内で *in vivo* で培養することで、配偶子分化におけるゲノム間、核細胞質間の相互作用を明らかにすること。

(3) 生残性であるが不妊のコイとキンギョの種間雑種 PGC を用い、(2)と同様の手法を用い、その配偶子分化におけるゲノム間、核細胞質間の相互作用を明らかにすること。

### 3. 研究の方法

(1) コイ目魚類の種間雑種における PGC の分化と宿主体内での動態の検討

コイ目魚類に属する様々な魚種を用い、それぞれの雑種における形態形成を確認し、雑種内での PGC の分化と宿主胚内での動態を明らかにする。

宿主としてゼブラフィッシュとキンギョを用いる。ドナー雑種は、ゼブラフィッシュ(ラスボラ亜科)あるいはキンギョ(コイ亜科)を雌親魚とし、ラスボラ亜科のパールダニオ、アカヒレ、カワムツ、ヌマムツ、ヒナモロコなどを雄親魚として、人工受精で誘導する。対照として、それぞれの雌親・雄親魚種の人工受精卵を用いる。

誘導した雑種の受精卵へ GFP-*nos* mRNA を注入した後に培養し、雑種の PGC 形成と、その移動動態について両親種との比較を行う。

誘導した雑種の受精卵へ GFP-*nos* mRNA と GFP-*BUCKY* mRNA を共注入し、胞胚期まで培養する。雑種の胞胚から GFP の蛍光を指標として PGC を吸引し、同時に受精・不妊化した雌親魚の受精卵へ PGC の移植を行う。

移植胚を観察し、蛍光を指標として、雑種 PGC の宿主生殖腺での維持、増殖の有無を確かめる。PGC の状態に応じて組織切片を作製し生殖腺での様態を明らかにする。

増殖が確認された雑種については、生殖系列キメラを飼育しその配偶子形成を確認した後、(雄由来のゲノムが排除される可能性があるため)種特異的マーカーにより配偶子の遺伝的背景を明らかにする。

最終的に、雌親魚と雄親魚の系統的な類縁性と配偶子形成との関わりを明らかにする。

(2) ゲノム・細胞質構成を変更したゼブラフィッシュ×キンギョ雑種 PGC の解析

ゼブラフィッシュ(Z)未受精卵に、2n キンギョ(G)の精子を受精した ZG のゲノムを持った雑種と、4n フナ(G)の 2n 精子を受精し極体放出を阻害した ZZGG のゲノムを持つ雑種を作製し、その発生および PGC の分化を明らかにする。ドナーの倍数性は、残った胚を FCM で調べることによる。

ゼブラフィッシュの受精卵に GFP-*Bucky Ball* mRNA を顕微注入し、生殖細胞質を可視化した後、これを分離する技術を開発する。

上述の ZG と ZZGG の雑種卵に GFP-*Bucky*

*Ball* mRNA と GFP-*nos* mRNA を共注入し、PGC の可視化を図る。雑種の胞胚より、PGC を GFP の蛍光を指標として選別し、不妊化したゼブラフィッシュ胞胚へ移植した生殖系列キメラを作成する。

GFP-*Bucky Ball* mRNA を注入したキンギョの受精卵より生殖細胞質を、上述の ZG と ZZGG の雑種胚の生殖細胞質分布領域へ移植し、ゼブラフィッシュとキンギョの両種の生殖細胞質(ミトコンドリアを含む)核と細胞質が共に雑種になった胚を作製する。この雑種の胞胚より、PGC を GFP の蛍光を指標として選別し、不妊化したゼブラフィッシュ胞胚へ移植した生殖系列キメラを作成する。

核ゲノムだけの雑種、核と細胞質が共に雑種になった PGC を移植した胚を観察し、蛍光を指標として、雑種 PGC の宿主生殖腺での維持、増殖の有無を確かめる。PGC の状態に応じて組織切片を作製し生殖腺での様態を明らかにする。

ドナー PGC の増殖が確認された雑種については、生殖系列キメラを飼育しその配偶子形成を確認した後、種特異的マーカーにより配偶子の遺伝的背景を明らかにする

最終的に、雌親魚と雄親魚のゲノムと細胞質が雑種の配偶子形成にどのように関わっているかを明らかにする。

(3) ゲノム・細胞質構成を変更したコイ×キンギョ雑種 PGC の解析

雄が不妊であるコイ(C)とキンギョ(G)の種間雑種を用い、そのゲノム構成・細胞質構成を実験的に変更した後、*in vivo* で培養することで、配偶子分化におけるゲノム間、核細胞質間の相互作用を明らかにする。

コイの未受精卵(核 C 生殖細胞質 c)に、2n キンギョの精子(核 G)を受精した CGc のゲノムと細胞質を持った雑種と、4n フナの 2n 精子(核 GG)を受精しコイ極体放出を阻害した CCGGc のゲノムとミトコンドリアを持つ雑種、さらに GFP-*Bucky Ball* mRNA を注入したキンギョの受精卵より生殖細胞質(細胞質 g)を、上述の CGc と CCGGc の雑種胚の生殖細胞質分布領域へ移植し、ゼブラフィッシュとキンギョの両種の核と細胞質が共に雑種になった胚 CGcg と CCGGcg の作製を試みる。

上述の雑種卵に GFP-*Bucky Ball* mRNA と GFP-*nos* mRNA を共注入し、PGC の可視化を図る。雑種の胞胚より、PGC を GFP の蛍光を指標として選別し、不妊化したゼブラフィッシュ胞胚へ移植した生殖系列キメラを作成する。ドナー細胞のゲノム量は、移植後のドナー胚を FCM にかけて推定する。

核ゲノムだけの雑種、核と細胞質が共に雑種になった PGC を移植した胚を観察し、

蛍光を指標として、雑種 PGC の宿主生殖腺での維持、増殖の有無を確かめる。増殖が確認された雑種については、生殖系列キメラを飼育しその配偶子形成を確認した後、種特異的マーカーにより配偶子の遺伝的背景を明らかにする。

#### 4. 研究成果

##### (1) コイ目魚類の種間雑種 PGC の宿主体内での動態、分化の検討

ゼブラダニオの一細胞 (2C) 当りの DNA 量を 3.58 pg/cell とし、FCM によりダニオ亜科魚種 7 種の相対 DNA 量を測定し、一細胞当りのゲノム量の推定を行った。その結果、パールダニオは 3.38 pg、アカヒレは 2.91 pg、ヒナモロコは 1.98 pg、カワバタモロコは 1.95 pg、オイカワは 1.89 pg、カワムツは 1.89 pg、ヌマムツは 1.93 pg と推定された。外来種のダニオ亜科魚類と在来種のダニオ亜科魚類では DNA 量に差が認められた。

上記 8 魚種を遺伝的に判別することを目的とし RAPD-PCR 解析を行った。プライマーに OPA-2、OPA-7、OPA-11、OPA-12、OPA-14、Wako-1、Wako-14 の 7 組を用いて解析した結果、カワムツとヌマムツ以外は、1 つのプライマーで魚種間の差が明確であった。また、使用したサンプル数が少ないにも関わらず、ゼブラダニオ、パールダニオ、アカヒレ、カワバタモロコでは多くのプライマーで多型性がみられ、種内での遺伝的ばらつきが大きいことが示唆された。

ゼブラダニオ×アカヒレ、ゼブラダニオ×ヒナモロコ、ゼブラダニオ×オイカワ、アカヒレ×ゼブラダニオの組み合わせで人工的に交雑を行った結果、受精率・生残率ともに対照群よりも悪く、奇形で致死であった。孵化仔魚の相対的 DNA 量は両親種の間を示した。これらは、致死性の雑種と考えられた。

アカヒレ×ヒナモロコでは受精率は極めて低いものの、生残率は対照群とほとんど変わらず、外部形態も正常で、正常個体は生存性を示した。この交雑では、両親種の間でのゲノム量を示す雑種個体の他、両親種の和に近いゲノム量を示す個体が認められ、四倍体 (複二倍体) と考えられた。また、パールダニオ×ヒナモロコでは受精率、生残率共に対照群より低いものの、正常個体は生存性を示した。正常個体は RAPD-PCR 解析では両親種のバンドが認められ雑種と考えられたが、パールダニオとほぼ同じゲノム量を示す個体が現れ、雌性発生の可能性が示唆された。

キンギョ×ヒナモロコ雑種においてはキンギョ精子による対照群と比較し、種間交雑群の受精率と生残率は非常に低く、形態的な異常が認められた。また、受精後 120

日以上生残したのは数個体であった。長期生残個体は同一水槽で飼育しているにもかかわらず、個体間で体長に大きな差がみられた。FCM で倍数性を測定した結果、体長が大きい個体は異質三倍体 (キンギョゲノム 2、ヒナモロコゲノム 1)、小さい個体は異質二倍体であった。異質三倍体は異質二倍体よりキンギョゲノムを 1 セット多く持つことで、生残性が向上したと考えられた。

キンギョ×ヒナモロコ受精卵への人工 mRNA の注入により GFP 蛍光細胞が体節形成期の胚に観察された。FCM によりこれらの胚は異質二倍体、または異質三倍体であった。交雑胚の蛍光細胞をキンギョ胚に移植したところ、生殖隆起で蛍光細胞が観察された。FCM によりドナー胚の倍数性を測定したところ、異質二倍体、または異質三倍体であった。キメラ個体での配偶子形成は明らかにならなかった。

キンギョ×カワバタモロコの受精卵は胞胚期まではキンギョ対照胚と同等に発生した。しかし、50%エピボリー以降、対照胚に比べてエピボリーが遅れる個体が多く見られそのほとんどは 100%エピボリー前後に死亡した。生残個体は、その後の発生過程で水腫を呈し受精後 10 日までに 85%以上の個体が死亡した。FCM により生残個体の倍数性を確認したところ、ほとんどの奇形個体は両親の倍数性の中間である雑種二倍体の倍数性を示した。一方、対照胚と同等な発生をした胚も存在し、FCM の結果より、キンギョ 2・カワバタモロコ 1 のゲノム構成を有すると考えられる異質三倍体が確認された。この結果から、本交雑でゲノム構成の異なる複数の致死性の雑種が誘導されたと考えられた。

キンギョ×カワバタモロコ雑種における PGC の顕在化を行った結果、胚体形成期以降 GFP 蛍光により PGC の存在が確認された。

胚盤移植法によりキンギョ×カワバタモロコの割球をキンギョ宿主へ移植したキメラ胚は、受精後 1 日目でもほとんどは生残 (96.2%) し、56.6% (30/53) で PGC と考えられる GFP 蛍光が確認された。キンギョ×カワバタモロコ胚に由来する PGC がキメラ胚の生殖隆起へ移動した胚は 11.3% (6/53) であった。生殖隆起へ移動した PGC は受精後一週間で消滅した。以上の結果から、本雑種の PGC は生殖隆起へ移動する能力を持つものの、細胞自体が致死あるいは宿主内で排除される可能性が高いと考えられた。

##### (2) ゲノム・細胞質構成を変更したゼブラフィッシュ×キンギョ雑種 PGC の解析

ゼブラフィッシュ×キンギョの雑種胚は正常な形態は示さず、尾、あご、眼等に

異常がみられた。また雑種胚の死亡率は受精後 0~1day の間が最も高かった。本雑種では、GFP-*nos* 3' UTR mRNA の注入により蛍光をもつ細胞が観察され、雄親であるキンギョの PGC の移動経路に似た移動パターンにより、両親種の生殖隆起に相当する位置に移動した。トランスジェニック系統を母親とする雑種においても GFP-*nos* 3' UTR mRNA と同様な細胞が観察された。このことから、本致死性雑種においても PGC が分化すると考えられた。

ゼブラフィッシュ×キンギョの雑種 PGC を移植したゼブラフィッシュ胚 561 個体のうち、24 時間後に生残していたものは 212 個体、そのうち PGC が生殖隆起に局在したものは 16 個体であった。これらの個体での配偶子形成は明らかにならなかった。

二倍体の精子を産生する四倍体フナの精子をゼブラフィッシュ卵に授精したところ、発生が確認された ( $n=67$ )。この個体はゼブラフィッシュ 1 フナ 2 のゲノム構成を持つ。また、この受精卵に圧力処理を加えゼブラフィッシュ 2 フナ 2 のゲノム構成を持つ複二倍体を誘導した ( $n=88$ )。前者は受精後 2 日目まで、後者は 3 日目まで生残した。

ゼブラフィッシュの受精卵に GFP-Bucky Ball のキメラ mRNA を注入し、4 細胞期での卵割溝での生殖細胞質の顕在化が確認された。この胚を低温保存した結果、卵割が停止した卵割面での生殖細胞質の量の増加が認められた。低温保存した胚をホモジナイズし、GFP 蛍光を指標に生殖細胞質の分離を試みた。その結果、生殖細胞質は繊維状の構造に接着していることが明らかとなった。密度勾配遠心による分離は困難であった。

### (3) ゲノム・細胞質構成を変更したコイ×キンギョ雑種 PGC の解析

染色体操作による四倍体 PGC の誘導のために、キンギョおよび 2 倍性精子を産生する四倍体フナを用い第 2 成熟分裂阻害および第一卵割阻害実験を再検討した。

キンギョ×4n フナ受精卵の第 2 成熟分裂阻害では、受精後 5 分 (5 mpf) に 40 °C で 1.5 分間処理を行った高温処理群で高い生残性が観察され、四倍体が高頻度で誘起された。

キンギョ×キンギョ受精卵の第一卵割阻害では、40 mpf 付近の高温処理で、最も低い生残率だが、最も高頻度で四倍体が出現した。受精卵の組織学的解析により、40 mpf は第一卵割中期であることを明らかにした。

キンギョ×キンギョ受精卵の第一卵割阻害処理を行った胚では、胞胚期以降から

体節形成期にかけて生残率の顕著な低下が観察された。この時期の処理胚を組織学的に調べた結果、卵黄多核層 (YSL) が肥厚して深層細胞が減少、または消滅した胚盤を持つ胚が多く観察され、その出現率は 40 mpf の群で最も高かった。また、エピボリーを停止し胚盤が崩壊する胚も多数認められ、胞胚期から体節形成期における YSL の肥厚あるいは胚盤の崩壊が、同時期の急激な死亡の主な要因であったと考えられた。

キンギョ×キンギョ受精卵の第二成熟分裂阻害、あるいは第一卵割阻害を行った胚から、孵化する四倍体個体がわずかに得られたが、全て体軸湾曲、口部欠損、単眼、水腫などの重度の奇形を呈し、摂餌期前後に全て死亡した。このことから、染色体操作により誘導された四倍体から成熟する個体は得られないと考えられた。

キンギョ×キンギョ受精卵の第二成熟分裂阻害または第一卵割阻害で誘導した四倍体個体をドナーとし、顕在化させた生殖細胞質をもつ割球を移植したキメラ胚では、ドナーに由来する四倍体 PGC が宿主胚の生殖隆起へ移動した。このことから、四倍体は機能的な PGC を分化すると考えられた。生殖系列キメラに移植された四倍体由来の PGC は、168 hpf まで生殖隆起位置に存在することが確認できた。しかし、キメラが死亡したためその後の解析はできなかった。

コイ×4 倍体フナ交配群の受精 5 分後に 40 °C の高温処理を行い、異質四倍体を誘起した。このうち、異質四倍体を誘起した 3 群において生残性のある個体群が得られた。対照群である異質三倍体群も生残性を示した。これらの相対 DNA 量を測定したところ、異質三倍体群では 3N にピークを示す個体のみが、一方、高温処理群では 3N あるいは 4N にピークを示す個体が見られた。また 2 分間の熱処理群では四倍体のみが確認された。

コイ×4 倍体フナ交配において異質四倍体を誘起した個体では、受精 10 日後の熱処理 2 分群に、生殖細胞の存在が確認された。受精 55、107 および 158 日後のコイ 1 フナ 2 三倍体とコイ 2 フナ 2 のゲノム構成を持つ四倍体の生殖腺の組織学的な解析を行ったところ、明瞭な生殖細胞が認められるものと認められない個体が見いだされた。これらの個体はすべて全長 70mm 以下で、性分化は明らかにならなかった。

### (4) まとめ

本研究において、コイ目魚類の種間雑種を誘導した。種間雑種は生残・致死にかかわらず GFP-*nos* 3' UTR mRNA で可視化される PGC が分化することが明らかとなった。いくつかの雑種の PGCs を生残性の宿主へ移植し、生殖系列キメラを誘導した。ドナーの PGC は宿主の生殖隆起へ移動することが

明らかになった。しかしながら、誘導されたキメラ内での増殖は確認されなかった。この結果は、雑種 PGCs の増殖能力が無いことを意味するものではない。なぜなら、ドナーの PGC は胞胚期に分離されたものであり、個体レベルで生残性が致死性なのかが明らかでないからである。今後、胞胚期より様々な雑種ゲノム構成を持つ PGCs を集め、宿主内で培養することで、増殖能力を持つ雑種 PGCs を分離できるものとする。

#### 《参考文献》

1) 山羽悦郎, 荒井克俊, 藤本貴史, 斎藤大樹: 生殖系列キメラを介して致死性魚類半数体由来する生殖細胞から遺伝的に同一な配偶子を得る方法 .W02011/099528 PCT/JP2011/052772

2) Yamada A, Kodo Y, Murakami M, Kuroda M, Aoki T, Fujimoto T, Arai K. Hybrid origin of gynogenetic clones and the introgression of their mitochondrial genome into sexual diploids through meiotic Hybridogenesis in the loach, *Misgurnus anguillicaudatus*. *Journal of Experimental Zoology Part A Ecological Genetics and Physiology* 323: 593-606 (2015)

#### 5. 主な発表論文等

[学会発表](計3件)

漆畑博太郎・高橋英佑・藤本貴史・荒井克俊・山羽悦郎. 温度変化に対するキンギョの胚発生. 平成 28 年度日本水産学会春期大会. 東京海洋大学品川キャンパス. 東京都港区. 2016 年 3 月 27 日.

納谷悠毅・高橋英佑・藤本貴史・荒井克俊・山羽悦郎. キンギョとカワバタモロコを使用した異種間交雑種の特徴と生殖系列キメラ中での始原生殖細胞の動態. 平成 27 年度日本水産学会秋期大会. 東北大学川内キャンパス. 宮城県仙台市. 2015 年 9 月 23 日.

河村早紀・荒井克俊・山羽悦郎. 蛍光イメージングによる胚細胞の倍数性解析. 平成 26 年度日本水産学会北海道支部大会. 函館市国際水産・海洋総合研究センター. 北海道函館市. 2014 年 12 月 19 日.

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

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: 6 0 1 9 1 3 7 6

##### (2) 研究分担者

荒井 克俊 (ARAI Katsutoshi)

北海道大学・水産科学研究院・教授

研究者番号: 0 0 1 3 7 9 0 2