

令和元年5月28日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15H02457

研究課題名(和文) 魚類の交雑に起因する特異な発生・生殖の分子機構解明と育種応用

研究課題名(英文) Molecular mechanisms of atypical development and reproduction caused by hybridization and the application to breeding in fishes

研究代表者

荒井 克俊 (ARAI, KATSUTOSHI)

北海道大学・高等教育推進機構・特任教授

研究者番号：00137902

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 26,700,000円

研究成果の概要(和文)：異魚種間の雑種胚は生存性あるいは致死性となったが、後者の場合、異質三倍体化により生存能力が回復した。雑種では生殖細胞の分化不全と両性生殖腺がしばしば見られた。天然でクローン生殖を行うドジョウは異系統の交雑に起源し、ペアを作ることができない染色体が倍加して、相同染色体のように行動し、遺伝的に同一の配偶子形成をすることを明らかにした。アイナメ属野外雑種は半クローン生殖のマーカーとなる特異な染色体をもつことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

雑種に関する知見を蓄積することで、優良形質を示す雑種を養殖に実装できる。交雑に起因する発生と生殖に起こる異常の原因を解明することで、ゲノム編集魚等の生物学的封じ込め技術や発生工学技術が開発できる。天然のクローンおよび半クローン生殖の起源と機構を解明することで、その原理を応用した効率的な育種(品種改良)技術が実現する。さらに、自然界におけるクローン、半クローン生殖等の進化生態学的意義への理解が進む。

研究成果の概要(英文)：Hybridization between different fish species produced viable or inviable progeny. Recovery of survival potential by allotriploidization was often recorded in certain inviable hybrids. In viable hybrids, germ cells were not normally differentiated and hermaphroditic gonads were frequently detected. Natural clonal loach has the hybrid origin between two genetically diverse strains. Each chromosome of the clone cannot find its counterpart for pairing in the course of meiosis. Thus, each chromosome is duplicated by premeiotic endomitosis and then sister chromosome pairing assures the formation of isogenic gametes. Natural Hexagrammos hybrids have large metacentric chromosomes closely linking to hemi-clonal reproduction (hybridogenesis). Thus, these chromosomes were used as marker of hemi-clone to detect presence or absence of back-crossed progeny between hemi-clonal hybrid female and paternal pure species.

研究分野：水圏生産科学

キーワード：水産学 農林水産物 発生・分化 遺伝学 バイオテクノロジー 雑種 クローン 倍数体

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

遺伝子組み換え魚、ゲノム編集魚のみならず外来魚の生物学的封じ込め的手段として、また、生殖系列キメラの宿主として不妊雑種が注目されるが、異種由来の核間あるいは核細胞質間の相互作用が初期発生や生殖に与える影響は多く不明であった。また、天然のクローン魚、半クローン魚、および倍数体魚などの特異現象は多く交雑に起因するとされてきたが、それらの起源と分子細胞機構の解明はほとんど進んでいなかった。さらに、人工および天然の雑種魚を育種(品種改良)に応用し、水産増殖を一層発展させるための戦略も提示されていなかった。

2. 研究の目的

異種間雑種の交雑では、異種精子由来の核(ゲノム)と卵由来の核あるいは細胞質の間で不適合が生じ、雑種は致死や不妊となるが、何らかの要因でゲノム倍加等の変異が生じると生存・生殖能力は大きく変化する。しかし、どのような機構でこのような事象が生じるかは不明である。本研究は、交雑により発生・生殖変異が起こる分子細胞機構を、特に異種間受精により生じる多様な初期発生様式、ゲノム構成補完システムとしての非還元卵形成と雑種発生および半クローン生殖について、組織学的、遺伝学的、細胞遺伝学的、分子遺伝学的方法を駆使して明らかにし、それらの成果を養殖魚類の育種技術開発につなげることを目的とする。

3. 研究の方法

野外等から得られた材料魚の飼育と人為成熟、排卵促進、人工授精により実験交配を実施した。一部の受精卵には染色体操作、顕微胚操作を加えた。細胞核のDNA量はフローサイトメトリーにより測定した。染色体標本は胚あるいは成体組織から直接法で作成した。染色体標本について反復配列等をプローブとしてFISH(Fluorescence *in situ* hybridization)を行った。胚、仔魚および生殖腺の固定および組織標本作成と観察は常法によった。遺伝的分析は標的とするミトコンドリアDNAあるいは遺伝子領域の塩基配列決定、RFLP解析、反復配列のPCR増幅、各魚種に特異的なマイクロサテライトDNAマーカー複数座のジェノタイピングに依った。

4. 研究成果

(1) 異種間受精の初期発生、核細胞質相互作用および生殖細胞分化への影響

ゼブラフィッシュ *Danio rerio* 卵の人工授精法改善と雄性発生倍加半数体誘起: 異種間受精や遺伝操作を円滑に行うためには、卵の受精能力を保持する必要がある。そこで、条件検討を行った結果、pH8.0のHank's液+0.5%ウシ血清BSAが最も良好な結果を示し、10~30分の間高い受精率を維持することができた。また、60rpmで振盪することで、受精率及び生残率が向上した。上記条件で卵の受精能を維持しつつ、50-75mJ/cm²でUV照射した精子の授精により雄性発生半数体が誘起でき、さらに受精後13分(28.5)における41.4%、2分間の高温処理で、最も良い場合約11%の生産率で倍加半数体を得ることができた。雄性発生倍加半数体の完全ホモ接合性はアルビノ表現型とマイクロサテライト8座の遺伝学的分析により確認した。

ゼブラフィッシュ卵を用いた異種間雄性発生による核細胞質雑種の胚発生と生殖細胞: 上記適正条件でUV照射したゼブラフィッシュ卵に、パールダニオ *Danio albolineatus*、キンギョ *Carassius auratus*、ドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* 野生型の半数性(1n)精子、あるいはギンブナ *C. longisordii* 自然四倍体、クローンドジョウの二倍性(2n)精子を授精し、異種間雄性発生を誘起し、核細胞質雑種を得て、それらの胚発生を観察した。同じ *Danio* 属内のパールダニオ1n核ゼブラフィッシュ細胞質雑種は孵化期まで生存したが、その後死亡した。キンギョ1n核ゼブラフィッシュ細胞質雑種、ギンブナ2n核ゼブラフィッシュ細胞質雑種は、いずれも胞胚後期で発生が停止した。ドジョウ1n核ゼブラフィッシュ細胞質雑種、ドジョウ2n核ゼブラフィッシュ細胞質雑種は胚盾期まで到達した胚が生じたが、その後死亡した。

既述の異種間核細胞質雑種において、*no tail* 遺伝子の発現を whole mount *in situ* hybridization により調査したところ核由来の遺伝子発現が生じ、ゼブラフィッシュ細胞質内での遺伝子発現機構は維持されていることが判明した。

始原生殖細胞PGCsをDsRedで可視化したゼブラフィッシュ正常胚に、パールダニオ1n核ゼブラフィッシュ細胞質雑種のGFP蛍光標識細胞を移植すると、これらはホストのゼブラフィッシュと同様に生殖隆起に到達した。従って、パールダニオ1n核ゼブラフィッシュ細胞質雑種では機能的な始原生殖細胞PGCsが分化した。

ゼブラフィッシュ *Danio* 属内種間雑種の生殖能力: ゼブラフィッシュ雌×パールダニオ雄間雑種の生殖腺の発達過程を調査した。まず、両親種の生殖腺の性分化と成熟を調べたところ、いずれも孵化後の日数よりも体長に依存し、一定の体長以上で成熟に達する個体が生じた。両親種が成熟に達する体長であっても、雑種は未分化生殖腺の構造を示した。ゼブラフィッシュとパールダニオはいずれも2n=50の染色体数を示し、両者の核型に明確な違いは認められないが、これらの種間雑種は生殖細胞分化に異常を示し、不妊性が強く示唆された。さらに、近縁のスポットダニオ *D. nigrofasciatus* 雄由来の精子を授精することで種間雑種を作出した。この雑種は純粋種と同程度の大きさの生殖腺を形成し、雄の場合は精子頭部サイズの異なる異数体精子(あるいは精子様細胞)を形成した。これらは授精能力を持つことから、ゼブラフィッシュ雌との戻し交配を行った結果、子孫は半数体~三倍体となり、ほぼ致死性であった。

キンギョ雌×カワバタモロコ雄二倍体および三倍体雑種: キンギョ卵にカワバタモロコ

Hemigrammocypris rasborella 精子を授精した。キンギョ雌雄間の受精卵を対照とした。異種間受精卵の発生は胚まで正常に進行し、エピボリーを開始するが、その速度は雑種で遅かった。多くの雑種はこの時期に死亡し、孵化に達した胚も浮腫等の異常を示し死亡した。正常孵化仔魚は少数であった。フローサイトメトリーによる倍数性判定の結果、異種間授精より生じた胚には両親種のゲノムをもつ二倍体雑種が多かったが、このほかに三倍体雑種（異質三倍体）、雌性発生半数体、同質二倍体が生じた。RAG1 遺伝子の分析から雑種はキンギョとカワバタモロコのゲノムをもつことが判明し、奇形仔魚は異質二倍体、正常仔魚は異質三倍体であった。異質三倍体における生存率改善が見られたので、異種間授精後 5 分、40、60 秒間の高温処理により第二極体放出阻止を行い、生存性の異質三倍体を誘起した。

異質二倍体は致死性であったが、それらの細胞を胚期キンギョに移植したところ、これらキメラ胚の生存率は雑種胚よりも良好であり、正常仔魚として孵化した。すなわち、キメラ化による生存能力回復が認められた。6 月齢まで生存したキメラ 5 個体中 1 個体の脳と両眼に致死性の雑種由来細胞が存在することがフローサイトメトリーと遺伝分析から確認できた。

異質三倍体の生殖細胞を組織学的に追跡したところ、受精後 1 週間で単一の PGC が生殖隆起に検出できた。PGC はやがて体細胞に囲まれ、受精後 7 週目の生殖腺で増殖した。GFP で蛍光標識した生殖質特異 *nos3* RNA を顕微注射して PGC を可視化した。雑種の PGC を含む割球をキンギョ胚に移植したところ、受精後 1 日ホスト胚で検出できたが、蛍光を示す細胞数は減少し、受精後 10 日では検出できなくなった。雑種 PGC はホスト胚の中で分化・増殖を示さなかった。

キンギョ雌 × ヒナモロコ雄二倍体および三倍体雑種：キンギョ卵をヒナモロコ *Aphyocypris chinensis* 精子で授精した。キンギョ雌雄間の受精卵を対照とした。異種間授精の場合、受精率は対照キンギョに劣った。フローサイトメトリーの結果、異種間授精より生じた子孫のほとんどは二倍体雑種であった。まれに、キンギョ雌性発生二倍体や三倍体雑種（異質三倍体）が出現した。二倍体雑種は異常を示し死亡したが、正常な形態を示すものもあった。6 月以上生存した個体中には二倍体および三倍体雑種、キンギョ雌性発生二倍体があった。異種間授精の 5 分後に 40、60 秒間の高温処理により第二極体放出を阻止して三倍体化をしたところ、すべての実験において受精後 30 日の高温処理群の生残率は、対照（無処理）群の生残率を上回った。

キンギョを対照として、キンギョ × ヒナモロコ異質三倍体の生殖腺を調べたところ、受精後 45 日まではキンギョと同様に生殖細胞の増加が観察されたが、60 日後では生殖細胞減少が見られ、受精後 90 日以降は生殖細胞をほとんど確認することができなかった。受精後 120 日までの異質三倍体生殖腺はキンギョと比べると小さく、雌雄の判定はできなかった。1 歳魚の生殖腺では卵巣腔が見られたことから、雌が存在すると考えられたが、その生殖腺では生殖細胞は見あたらなかった。従って、三倍体雑種雌は不妊と考えられる。

サケ科魚類における二倍体および三倍体雑種の生存能力：サクラマス *Oncorhynchus masou* とアメマス *Salvelinus leucomaenis*、カラフトマス *O. gorbuscha* とサクラマス *O. masou* の間における正逆異種間授精により作出した二倍体雑種、および受精後 10 分の高温処理（28、10 分間）により誘起した三倍体雑種は生存性で、孵化期、浮上期を超えて子孫は生存した。ヒメマス *O. nerka*-サクラマス間の異種間授精より生じた雑種は孵化以前にほぼ全滅したが、高温処理群には孵化、浮上する個体が少数あり、異質三倍体化による生存率向上が認められた。ヒメマス雌 × アメマス雄間、ヒメマス雌 × オシロコマ *S. malma* 雄間の異種間授精より生じる子孫は致死性であり、高温処理による異質三倍体化による生存性回復効果は見られなかった。サクラマス雌とマスノスケ *O. tshawytscha* 雄間二倍体および三倍体雑種は生存性であった。一年以上の長期にわたり観察したところ、二倍体雑種の生残性が三倍体雑種、対照サクラマス二倍体、対照サクラマス三倍体に勝り、成長においても雑種強勢を示す可能性が示唆された。

サケ科魚類致死性雑種の発生異常機構：シロザケ雌 × イワナ属雄の異種間交雑では、既報の通り、二倍体雑種は致死性、三倍体雑種では生存性回復が生じることを複数年度にわたり確認できた。また、イワナ属雄を用いたシロザケ × イワナ（新潟系）、シロザケ × オシロコマ、シロザケ × カワマス *S. fontinalis* においても、二倍体雑種の致死性と異質三倍体化による生存性回復が確認できた。

シロザケ雌 × アメマス雄雑種について組織学的に調べたところ、三倍体では対照シロザケと同様に正常な胚発生が進行するが、致死性の二倍体雑種では受精後 12 日以降に胚体の矮小化が顕在化し、受精後 21 日目にはレンズと眼杯の位置関係が異常な胚と比較的正常に近い胚の二型が生じた。この相違はこの時期以降の胚頭部のサイズに生じる二型と相関した。眼の形成に関与する 2 種の候補遺伝子の発現量を発生段階毎にリアルタイム PCR により解析した結果、一方の遺伝子ではすべての実験群で発生段階による発現量変化が認められなかった。他方の遺伝子では、二倍体雑種において、三倍体雑種と対照よりも低い発現量を示す個体が見られた。

サケ科魚類雑種の成長および生殖特性：シロザケ雌 × アメマス雄、シロザケ雌 × オシロコマ雄、シロザケ雌 × カワマス雄三倍体雑種 2 歳魚について、生殖腺を検査したところ、前二者では発達した生殖腺は認められず不妊であった。一方、シロザケ雌 × カワマス雄三倍体では調べた 7 個体でよく発達した生殖腺が見られた。これらの生殖腺は精巣様構造を示す場合と卵を含む精巣様構造を示す場合、さらに顆粒状の表面を持つ構造がみられた。また、生殖腺には 1.5n の細胞が出現し、異数性精子形成が示唆された。従って、シロザケ雌 × カワマス雄三倍体雑種において生殖腺発達の可能性が示された。

サクラマス × カラフトマス正逆二倍体雑種において性決定遺伝子 *sdY* を用いて遺伝的性比を

調べたところ、胚期および孵化仔魚期には性比の偏りは認められず、成長した8か月齢以上の一部集団で有意に性比が雌に偏る場合が観察された。したがって、成長に伴う、雑種雌雄の生存能力の差が性比に影響することが考えられた。

アメマス雌×サクラマス雄二倍体雑種における生殖能力を精査するため組織学的観察と倍数性測定を行った。雑種では2歳魚1個体が卵巣、1~2歳魚7個体が精巣の構造を示し、残りの92個体は卵巣構造を基盤とする間性生殖腺を示した。卵巣を示した個体は $sdY(-)$ で卵母細胞形成を示した。精巣を示した個体は $sdY(+)$ で、シスト構造、精原細胞、精母細胞、精細胞が見られた。間性生殖腺を示した個体では $sdY(+)$ と $sdY(-)$ が24:35の率で生じた。フローサイトメトリーにより間性生殖腺から半数性細胞が検出され精子形成の可能性が示されたが、構造から間性生殖腺では卵が得られる可能性が示唆された。

(2) 非還元卵形成機構の解明 ドジョウクローンをモデルとした解析

野生集団におけるクローンドジョウの検索：反復配列 ManDra、ManBgl の PCR および RAG1 遺伝子の PCR-RFLP により、簡便にドジョウ類種・系統判別とクローン識別が可能になった。これらの核マーカーと mtDNA マーカーの分析から、北海道網走地方では23%がクローンであったのに対し、石川県能登島ではクローン出現率は僅か2%であり、後者では外来系統の侵入によりクローン生殖維持の機構が崩壊しつつあることが判明した。また、上記のマーカーを用いて日本全体におけるドジョウ3系統の分布状態と各地ドジョウのゲノム構成を解明できた。

FISH 法によるクローン生殖機構の分子細胞遺伝学的解明：ドジョウ A 系統の一部染色体と B 系統の全染色体を各々識別する、ManDra-A と ManDra-B をプローブとする FISH 法により、クローンドジョウの染色体は A および B 系統に由来することを示し、交雑起源を分子細胞遺伝学的に確認した。相同染色体を識別する 5.8S+28SrDNA プローブを併用した 2-color-FISH により、異系統に由来し対合できない染色体が核内分裂により倍加して形成された、遺伝的に同一の姉妹染色体があたかも相同染色体のように対合して、二価染色体を形成することで疑似的な減数分裂を起こし、これによりクローン配偶子が形成されることを魚類で初めて証明した。

本手法により、クローン由来三倍体雄および A-B 系統間雑種雄では、起源の異なる染色体の間で対合の不全が生じ、これにより不妊となる生殖細胞が形成されることも観察した。また、本手法により生殖腺組織標本におけるゲノム識別が可能となった。クローン二倍体性転換雄における *de novo* RNA-seq 解析において、発現量に差を示す細胞周期関連の4遺伝子のリアルタイム PCR を実施したが、クローン系統精巣で特異的高発現を示す遺伝子特定には至らなかった。

(3) 半クローン生殖の機構と進化生態学的意味 アイナメ属野外雑種をモデルとした解析

半クローン特異的マーカー染色体の発見：スジアイナメ *Hexagrammos octogrammus*、アイナメ *H. otaki*、クジメ *H. agrammus* はいずれも $2n=48$ を示し、人為的に作出した F1 雑種は両親種の中間の核型を示す。しかも、これら F1 は半クローン生殖を起こさず、減数分裂による配偶子形成を行う。一方、雑種発生 hybridogenesis により半クローン生殖を行う野外雑種(母系種スジアイナメ、父系種アイナメあるいはクジメ)では、2-4本の大型中部(m)着糸型染色体の出現、4-8本の次端部(st)あるいは端部(t)着糸型染色体の消失、および1-2本の微小染色体の出現からなる特異的な核型が認められた。大型m型染色体はロバートソン型転座により形成されていた。これらの特異的な核型並びに染色体は半クローン生殖に密接に関連し、そのマーカーとなった。

半クローン特異的マーカー染色体による戻しスジアイナメの分析：野外雑種雌とスジアイナメ雄の交配から生じるスジアイナメゲノムを2セット持つ戻しスジアイナメ個体においてもマーカー染色体は見られた。しかし、この個体をスジアイナメに交配させた子世代、孫世代においても特異的マーカー染色体は消失した。

マーカー染色体を用いた野外における戻しスジアイナメの検出：戻しスジアイナメは半クローンの基盤となるゲノムをスジアイナメ遺伝子プールにもどすことになり、半クローン集団における有害遺伝子蓄積(Muller's ratchet)を検討するための良い手段である。まず、野外のスジアイナメ縄張りから受精卵卵塊を取り、染色体標本作成・観察により半クローン特異的マーカー染色体の存否を調べた。その結果、約5%が野外雑種由来であった。クジメ縄張りでは雑種率は約7%であった。従って、双方向の戻し交配が生じていることが判明した。

5. 主な発表論文

[雑誌論文](計7件)

Masamichi Kuroda, Takafumi Fujimoto, Masaru Murakami, Etsuro Yamaha, and Katsutoshi Arai. Aberrant meiotic configurations cause sterility in clone-origin triploid and inter-group hybrid males of the dojo loach, *Misgurnus anguillicaudatus*. Cytogenetic and Genome Research, 査読有 2019, in press. DOI:10.1159/000500303

Masamichi Kuroda, Takafumi Fujimoto, Masaru Murakami, Etsuro Yamaha, and Katsutoshi Arai. Clonal reproduction assured by sister chromosome pairing in dojo loach, a teleost fish. *Chromosome Research*, 査読有 2018, vol.26, page 243-253. DOI: 10.1007/s10577-018-9581-4

荒井克俊. 魚介類における雑種、倍数体とクローンの研究 40年をふりかえって. 水産育種 査読有 2018, 48巻, 1-50頁. DOI:なし www.suisanikushu.jp/

Mitsuru Endoh, Takafumi Fujimoto, Etsuro Yamaha, and Katsutoshi Arai. Improved

procedure for induction of the androgenetic doubled haploids in zebrafish. *Zebrafish* 査読有 2018, vol.15, issue 1, page 33-44. DOI:10.1089/zeb.2017.1482

Takafumi Fujimoto, Aya Yamada, Yukihiro Kodo, Kohei Nakaya, Michiko Okubo-Murata, Taiju Saito, Kohei Ninomiya, Michiko Inaba, Masamichi Kuroda, Katsutoshi Arai, and Masaru Murakami. Development of nuclear DNA markers to characterize genetically diverse groups of *Misgurnus anguillicaudatus* and its closely related species. *Fisheries Science* 査読有 2017, vol.83, page 743-756. DOI: 10.1007/s12562-017-1108-y

Shota Suzuki, Katsutoshi Arai, and Hiroyuki Munehara. Karyological evidence of hybridogenesis in gleenlings (Teleostei: Hexagrammidae). *PLOS ONE* 査読有 2017, vol.12, no.7, e0180626. DOI:10.1371/journal.pone.0180626

Hiroyuki Munehara, Miho Horita, Motoko R. Kimura - Kawaguchi, and Aya Yamazaki. Origins of two hemiclinal hybrids among three *Hexagrammos* species (Teleostei: Hexagrammidae): genetic diversification through host switching. *Ecology & Evolution* 査読有 2016, vol.6, issue 19, page7126-7140. DOI: 10.1002/ece3.2446

[学会発表](計 29 件)

柴田季子(発表者)・黒田真道・山羽悦郎・藤本貴史・荒井克俊 ドジョウ染色体における 5SrDNA 領域の Fluorescence *in situ* Hybridization (FISH). 平成 31 年度日本水産学会春季大会 2019

黒田真道(発表者)・柴田季子・村上賢・山羽悦郎・藤本貴史・荒井克俊 Sperm-Fluorescence *in situ* Hybridization (Sperm-FISH)を用いた精子のゲノム構成と倍数性判別法. 平成 31 年度日本水産学会春季大会 2019

黒田真道(発表者)・柴田季子・村上賢・山羽悦郎・藤本貴史・荒井克俊 系統識別プローブを用いた Fluorescence *in situ* Hybridization (FISH)によるクロードジョウの交雑起源 平成 31 年度日本水産学会春季大会 2019

藤本貴史(発表者)・柴田季子・小亀友也・高橋英佑・山羽悦郎・荒井克俊・足立伸治 サクラマス雌×マスノスケ雄の交雑に由来する二倍体雑種と三倍体雑種の生存と成長 平成 31 年度日本水産学会春季大会 2019

島文華(発表者)・浅沼黎・兼安敬久・市村正樹・高橋英佑・山羽悦郎・藤本貴史・荒井克俊 カラフトマスとサクラマス雑種の生存性と遺伝的性の偏り 平成 31 年度日本水産学会春季大会 2019

遠藤充(発表者)・島文華・浅沼黎・Milos Havelka・山羽悦郎・藤本貴史・荒井克俊 ゼブラフィッシュ雌×スポッテッドダニオ雄雑種の作出と雑種由来精子を用いた戻し交配 平成 31 年度日本水産学会春季大会 2019

鈴木将太(発表者)・宗原弘幸 クジメ系半クロン雑種由来の野外組み換え雑種の出現 平成 31 年度日本水産学会春季大会 2019

荒井克俊(発表者) 水産におけるハイブリッドとクロン~40 年をふりかえって~ 平成 30 年度水産育種研究会 2018

黒田真道(発表者)・藤本貴史・村上賢・荒井克俊 新規プローブをも敷いた Fluorescence *in situ* hybridization (FISH)による系統間ドジョウの染色体識別法の検証 平成 30 年度日本水産学会春季大会 2018

藤本貴史(発表者)・遠藤充・兼安敬久・高橋英佑・傳法隆・阿達大輔・Joanna Nynca・Andrzej Cierszko・市村正樹・荒井克俊 精子凍結保存におけるサクラマスとシロザケの違い 平成 29 年度日本水産学会北海道支部大会 2017

黒田真道(発表者)・藤本貴史・村上賢・荒井克俊 クロードジョウの雑種起源と非還元配偶子形成メカニズムの検証 平成 29 年度日本水産学会北海道支部大会 2017

藤本貴史(発表者)・遠藤充・兼安敬久・高橋英佑・山羽悦郎・Joanna Nynca・Andrzej Cierszko・市村正樹・荒井克俊 サケ科魚類における凍結保存精子の運動性と精液性状 Cryopreservation Conference 2017 2017

藤本貴史(発表者) 実験動物としてのドジョウ 2017 年度日本魚類学会年会シンポジウム 2017

荒井克俊(発表者) ドジョウクロンの生殖機構と交雑起源 2017 年度日本魚類学会年会シンポジウム 2017

鈴木将太(発表者)・三宅翔太・荒井克俊・藤本貴史・宗原弘幸 半クロンの細胞遺伝学 日本水産学会年会シンポジウム 2017

Kota Yokoyama, Takafumi Fujimoto, and Katsutoshi Arai(発表者) Induced polyspermy in pond loach, *Misgurnus anguillicaudatus*: cytological behavior of sperm nuclei intruded into dechorionated eggs. 6th International Workshop on the Biology of Fish Gametes 2017

Mitsuru Endoh(発表者), Takafumi Fujimoto, Etsuro Yamaha, and Katsutoshi Arai Embryonic development of nucleo-cytoplasmic hybrids by interspecific androgenesis among species in cypriniformes. 6th International Workshop on the Biology of Fish Gametes 2017

藤本貴史(発表者)・兼安敬久・遠藤充・高橋英佑・山羽悦郎・Joanna Nynca・Mariola Dietrich・Andrzej Cierszko・荒井克俊 サクラマスの精液性状と凍結保存精子の運動性

の関係 平成 29 年度日本水産学会春季大会 2017

鈴木将太(発表者)・宗原弘幸 アイナメ属における半クローンの再生 平成 29 年度日本水産学会春季大会 2017

藤本貴史(発表者)・兼安敬久・浅沼黎・島文華・高橋英佑・山羽悦郎・Joanna Nynca・Andrzej Ciereszko・荒井克俊 サケ科魚類精子保存法に向けた GM 法の検討 Cryopreservation conference 2016 2016

- ⑳ 遠藤充(発表者)・藤本貴史・荒井克俊 コイ目魚類での異種間雄性発生による核 細胞質雑種の誘起とその胚発生能力 日本動物遺伝育種学会第 17 回大会 2016
- ㉑ 兼安敬久(発表者)・浅沼黎・島文華・高橋英佑・山羽悦郎・市村正樹・藤本貴史・荒井克俊・Joanna Nynca・Mariola Dietrich・Andrzej Ciereszko シロザケを母系種とした二倍体雑種と三倍体雑種の生存能力 2016 年度日本水産増殖学会第 15 回大会 2016
- ㉒ 稲葉倫子(発表者)・石山尚樹・松原創・藤本貴史・荒井克俊 北海道網走地方及び石川健能登島地方におけるクロンドジョウの出現とその野生集団との遺伝的關係 平成 28 年度日本水産学会北海道 東北合同支部大会 2016
- ㉓ 兼安敬久(発表者)・浅沼黎・島文華・高橋英佑・山羽悦郎・藤本貴史・荒井克俊 シロザケ×アメマス異質三倍体の生存性回復と淡水での飼育特性 平成 28 年度日本水産学会北海道 東北合同支部大会 2016
- ㉔ 宗原弘幸(発表者)・鈴木将太・三宅翔太・堀田海帆・川口幹子 アイナメ属雑種、半クローン雑種 2 系統と母種の集団構造解明、これまでの成果と課題 2016 年度日本魚類学会年会 2016
- ㉕ 兼安敬久・浅沼黎・太田稔章・傳法隆・高橋英佑・山羽悦郎・藤本貴史・荒井克俊(発表者)・Joanna Nynca・Mariola Dietrich・Andrzej Ciereszko ヒメマス *Oncorhynchus nerka* を用いた雑種二倍体および三倍体の生存能力 平成 28 年度日本水産学会春季大会 2016
- ㉖ 三宅翔太(発表者)・鈴木将太・荒井克俊・宗原弘幸 半クローン発生するクジメ系雑種のホストの識別 平成 28 年度日本水産学会春季大会 2016
- ㉗ 宗原弘幸(発表者)・堀田海帆・三宅翔太・鈴木将太 半クローン発生するクジメ系雑種の起源と維持 平成 27 年度日本水産学会北海道支部大会 2015
- ㉘ Mitsuru Endo(発表者), Takafumi Fujimoto, and Katsutoshi Arai Improved fertilization rate by temporary preservation in zebrafish. 5th International Workshop on the Biology of Fish Gametes 2015

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<https://www.global.hokudai.ac.jp/blog/fish-reproduction-two-times-a-lady/> Fish reproduction: Two times a lady (2018 年 8 月 2 日)

https://www.hokudai.ac.jp/news/180710_pr.pdf 母の遺伝情報しか持たないドジョウの卵形成を解明(2018 年 7 月 10 日)

https://www.hokudai.ac.jp/news/16029_fsc_pr.pdf アイナメ属半クローン雑種の正体はホストを乗り換えて永続するゲノムだった。(2016 年 9 月 26 日)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：藤本 貴史
ローマ字氏名：FUJIMOTO, takafumi
所属研究機関名：北海道大学
部局名：大学院水産科学研究院
職名：准教授
研究者番号 (8桁)：10400003

研究分担者氏名：山羽 悦郎
ローマ字氏名：YAMAHA, etsuro
所属研究機関名：北海道大学
部局名：北方生物圏フィールド科学センター
職名：教授
研究者番号 (8桁)：60191376

研究分担者氏名：宗原 弘幸
ローマ字氏名：MUNEHARA, hiroyuki
所属研究機関名：北海道大学
部局名：北方生物圏フィールド科学センター
職名：准教授
研究者番号 (8桁)：80212249

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：傳法 隆
ローマ字氏名：DENBOH, takashi
所属研究機関名：北海道大学
部局名：北方生物圏フィールド科学センター
職名：助教

研究協力者氏名：高橋 英佑
ローマ字氏名：TAKAHASHI, eisuke
所属研究機関名：北海道大学
部局名：北方生物圏フィールド科学センター
職名：技術職員

研究協力者氏名：遠藤 充
ローマ字氏名：ENDO, mitsuru
所属研究機関名：北海道大学
部局名：大学院水産科学院
職名：大学院博士課程 日本学術振興会特別研究員

研究協力者氏名：黒田 真道
ローマ字氏名：KURODA, masamichi
所属研究機関名：北海道大学
部局名：大学院水産科学院
職名：大学院博士課程 日本学術振興会特別研究員

研究協力者氏名：島 文華
ローマ字氏名：SHIMA, fumika
所属研究機関名：北海道大学

部局名：大学院水産科学院
職名：大学院博士課程

研究協力者氏名：柴田 季子
ローマ字氏名：SHIBATA, kiko
所属研究機関名：北海道大学
部局名：大学院水産科学院
職名：大学院修士課程

研究協力者氏名：鈴木 将太
ローマ字氏名：SUZUKI, shota
所属研究機関名：北海道大学
部局名：大学院環境科学院
職名：大学院博士課程
(2018年10月より)
部局名：北方生物圏フィールド科学センター
職名：学術研究員

研究協力者氏名：シエルシュコ アンジェイ
ローマ字氏名：CIERESZKO, andrzej
所属研究機関名：ポーランド科学アカデミー
部局名：動物生殖食品科学研究所
職名：教授

研究協力者氏名：デートリッヒ マリオラ
ローマ字氏名：DIETRICH, mariola
所属研究機関名：ポーランド科学アカデミー
部局名：動物生殖食品科学研究所
職名：助教

研究協力者氏名：ニンツァ ヨアンナ
ローマ字氏名：NYNCA, joanna
所属研究機関名：ポーランド科学アカデミー
部局名：動物生殖食品科学研究所
職名：助教