

微細藻の安定的大量培養技術の開発

竹家 均（高知県海洋深層水研究所）・荻田 淑彦（現高知県内水面漁業センター）・
小野寺 健一（高知大学）

単離した *Symbiodinium* 属共生渦鞭毛藻は従来方法のフラスコ培養では、単一容器で 2L 程度が上限であった。本研究では、段階的にスケールアップを行い、最大 1,000L のアルテミア水槽で培養が可能となった。また、エアポンプの通気で攪拌を行うことで、成長を早めることが可能となり、培養期間を短縮できた。

1. 目的

微細藻類とは、水中に存在する顕微鏡サイズの藻類の総称である。微細藻類の中で、海洋渦鞭毛藻類は、生物活性を有する多くの代謝産物を生産している。中でも共生渦鞭毛藻類は海洋動物中に存在して共に助け合って生活を営んでいる。この藻類を動物体内から単離して、人工的に培養し、成育した藻類を用いて、生物活性を有する有用な代謝産物を探索する研究が可能である。

高知大学の小野寺研究室では、この共生渦鞭毛藻類の一つで、シャコガイに共生している *Symbiodinium* 属共生渦鞭毛藻（図 1）を単離し、培養を行った。そして、この藻類代謝産物の生物活性を調査したところ、遅延性アレルギーに対して優れた抑制効果を示すことが明らかとなった¹⁾。

従来方法であるフラスコ培養では一度に 2L 程度が上限であり大量培養が困難であった。一方で、当研究所において *Amphidinium* 属渦鞭毛藻では平成 23 年に 4t 規模（1,000L×4 基）の培養に成功している²⁾。そこで本研究でも、同様に 1,000L のアルテミア水槽で培養できるか検討した。また、藍藻類など目的物質以外のコンタミネーション（図 2、以下コンタミ生物）が見られることがあることからこの問題の解決のために攪拌方法を変えることでコンタミ生物が抑制できるか検討した。

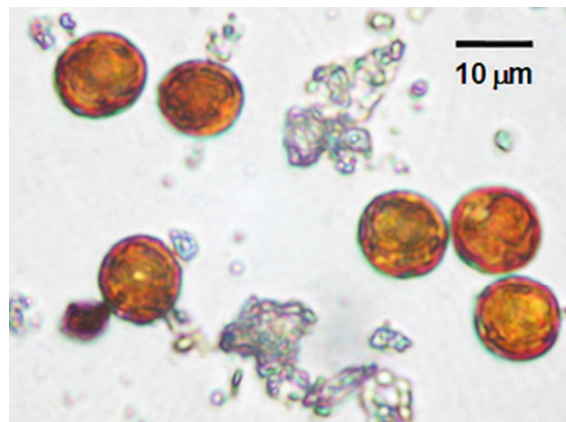


図 1 *Symbiodinium* 属共生渦鞭毛藻



図2 コンタミ生物が発生した水槽（左）と発生していない水槽（右）

2. 方法

2. 1 1L ビーカーでの培養

インキュベーター（三洋電機バイオメディカ（株）製、MIR-253）を用い、庫内を 25℃としマグネチックスターラーで攪拌しながらバッチ式で培養を行った。培養液は滅菌深層水に 0.02% のノリ糸状体培養用栄養剤を加えたものを使用した。光の条件は、蛍光灯を使用し、光周期 16L:8D (Light:Dark) で行った。ここで培養した微細藻を以下の 30L アルテミア水槽での培養に使用した。

2. 2 30L、200L 及び 1 t アルテミア水槽での培養

温度調整はエアコンで行い 25℃で培養を行った。30L アルテミア水槽に 2. 1 で培養した 1L ビーカーを 5 本と深層水 25L を入れ、培養を開始した。その後は 30L → 200L → 1,000L の順で、培養を行い、すべてバッチ式で行った。深層水は 0.01 μ m の中空糸 UF 膜（東レ製、CP20-1010-B）でろ過後使用した。培養液はノリ糸状体培養用栄養剤を深層水に対して 0.02% となるよう調整した。光の条件は、蛍光灯を使用し、光周期 16L:8D (Light:Dark) で行った。

2. 3 攪拌方法の違いによる培養

攪拌機による攪拌とエアポンプの通気による攪拌で培養を行い、増殖速度に違いが現れるか検討した。エアポンプの通気は三角フラスコに水道水を入れその中に一度通したエアでバブリングし攪拌を行った。アルテミア水槽 30L で比較試験を行い、条件は 2. 2 の培養方法で行った。

2. 4 細胞数の計数

微細藻の計数は、培養液を適量取りプランクトン計数板（松浪硝子工業（株）製、MPC-200）に注入し細胞数を計数し、そこから1mLあたりの細胞数を算出した。

2. 2の培養では、200L、1,000Lへのスケールアップをプランクトン計数板でおよそ200,000個/mLとなるのを目安とした。

3. 結果及び考察

3. 1 1,000Lアルテミア水槽での培養

段階を経ずにスケールアップを行うと渦鞭毛藻類以外の藻類も同時に発生して渦鞭毛藻類の増殖が阻害された。一方、段階的にスケールアップを行った水槽は、コンタミ生物は発生したが段階を経ない水槽と比較して抑制でき、結果として1,000L水槽での培養できた。

3. 2 攪拌方法の違いによる培養

攪拌機による攪拌（図3）とエアポンプの通気による攪拌（図4）との比較では、エアポンプの通気による攪拌の方が攪拌機によるものより約1.8倍増殖した（表1）。この結果、渦鞭毛藻類の成長を早めることが可能となり、培養期間を短縮できた。

エアレーションによる攪拌は、エアを一度水に通したことにより、コンタミ生物が除去されると考えられる。一方、攪拌機による攪拌は細胞にダメージを与え、増殖を制限する場合もある³⁾。また、エアレーションによる攪拌では、空気中の二酸化炭素が供給されることによって増殖制限の緩和あるいは増殖促進させたと考えられる³⁾。これらのことから、エアレーションによる攪拌は、コンタミ生物が押さえられ微細藻の増殖に繋がったと推測した。

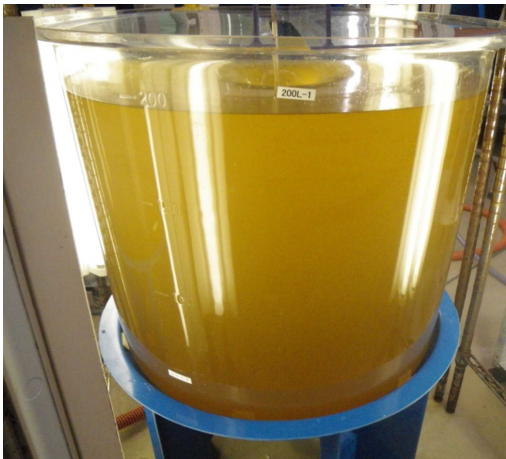


図3 攪拌機による攪拌を行った水槽

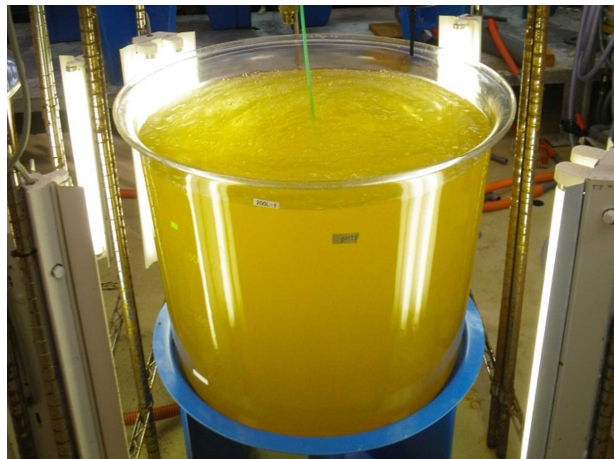


図4 エアポンプの通気による攪拌を行った水槽

表1 攪拌機とエアポンプの通気による攪拌の違いによる微細藻の個数（アルテミア水槽 30L で試験）

攪拌方法	スタート時	3日後	6日後	9日後	12日後	2週間後
攪拌機	49,900	68,000	135,000	157,500	195,300	205,300
エアポンプ	46,500	72,800	138,300	194,000	263,000	364,300

単位：個/mL

参考文献

- (1) 発明の名称：遅延性アレルギー抑制剤，出願番号：特願 2013-235410，出願人：高知大学，
発明者：小野寺健一、富永明
- (2) 池部慶太 他 海洋微細藻由来抗腫瘍性物質の大量生産技術の開発と創薬研究 高知県海洋深層水研究所報，第9号，7-10
- (3) 太田尚志、平岡正明、佐々木洋、原芳道 有用海産微細藻類 *Nannochloropsis* の大量培養法に関する基礎研究 I - 増殖特性の把握に向けて - ，「石巻専修大学 研究紀要」第25号 1-9
2014年3月