

海洋深層水を用いた紅藻類培養

平岡雅規・谷口道子

1. 研究目的

通常海藻類の事業規模での培養は海面で行われている。しかし、海面で藻類を培養した場合、四季の影響を受け培養できる時期は限られ、また、最近の沿岸環境汚染の影響で質のよい海藻を得ることは困難になっている。一方、これまでの表層水を汲み上げ用いる陸上タンク培養では、さらにタンク内の水温が上昇すること、雑藻や目的外の動植物プランクトンが繁殖するなどの理由により、事実上、事業規模での培養は不可能に近く、事業規模での生産は行われていない。今回研究対象としている紅藻類についても陸上タンク培養は行われていない。紅藻類は将来、健康食品、医薬品、化粧品等の原料として利用されることが予想され、大量かつ安定的に供給されることが期待されている。海洋深層水は低温安定性、清浄性を有しており、この特性は陸上で海藻を培養する場合に有用性を発揮すると考えられる。本研究ではこの海洋深層水の特性を生かして紅藻類を大量かつ安定的に供給できるかどうか、また、そのための最適条件を見つけ出すことを目的として研究した。研究対象は海洋深層水湧昇影響域によく繁茂することが知られている紅藻類を選んだ。色素や多糖類などを産する藻種として注目されている微細紅藻チノリモとカラギーナンや生理活性物質レクチンなどを含有する大型海産紅藻トゲキリンサイを選び、大量培養を試みた。

2. 研究方法

チノリモの培養試験：東京大学分子細胞生物学研究所より分与されたチノリモ3株（R1, R2, R3株）を深層水で培養し、増殖を観察した。増殖が認められたR3株で、深層水と表層水に無機塩類（MKM培地： KNO_3 , KH_2PO_4 , MgSO_4 , Ammonium ferric）を添加した場合と、添加しない場合で増

殖率の違いを調べた。また、無機塩類を加えた深層水を使い、異なる光条件（白色蛍光灯, 500, 1000, 2000, 4000lux）、温度条件（10, 15, 20, 25, 30℃）でR3株を培養し、最適な培養条件を検索した。以上の実験は300mLから5Lまでのフラスコを用い、懸濁したかたちで増殖するように粒径1mm程度のガラスビーズを入れて、エアレーションをしながらバッチ法で培養した。

チノリモの大量培養試験：5Lフラスコまでの小規模実験の結果をふまえて、光リアクター（容量180L）でチノリモR3株の連続大量培養を行った。ろ過深層水に無機塩類を加えたMKM培地、照度15,000lux、25℃で培養した。チノリモ濃度が定常期に達しはじめたときに、40Lのチノリモ懸濁液を抜き取り、連続冷却遠心器でチノリモを回収した。懸濁液は、8,000rpmで回転する連続型ロータに4-5L/hourの流量で流し込んだ。また、40Lの抜き取り分を、新たに上記培地を同量（40L）を光リアクターに加えて培養を継続した。

チノリモの機能成分分析：回収したチノリモは高知大学理学部、徳島大学薬学部等の各研究機関に分与し、各種成分分析および生理活性試験が行われた。

海洋深層水からの微細藻類分析：海洋深層水研究所内の出水溝から紅色微生物を分離、培養し、同定を試みた。

トゲキリンサイの培養試験：ポリカーボネイト製1tタンクに海洋深層水30-60L/hour（水温11-13℃）を注水した。1999年は水温調節を行わなかったが、2000年度は水温が20℃前後になるように、随時、注水量調整を行ってトゲキリンサイを養殖した。

3. 研究結果

チノリモの培養試験：R1, R2, R3株のうち、R3株が最もよく増殖した。栄養塩を添加しない条件では、表層水よりも深層水で培養するほうがよく増殖したが、栄養塩を添加した場合は、添加しない場合の10倍以上の増殖率が得られ、深層水と表層水の増殖率の差は認められなかった（図1）。実験で設定された光条件と温度条件では4000lux、25℃が最適な培養条件であった。

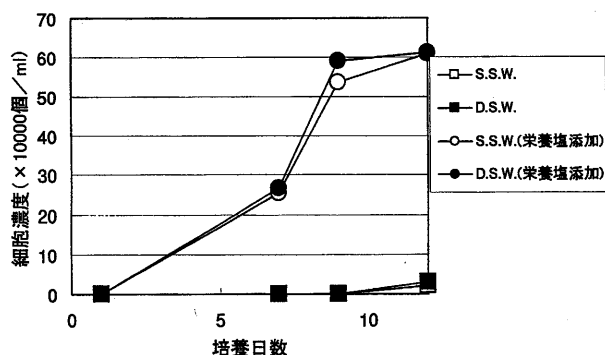


図1 チノリモの増殖曲線

チノリモの大量培養試験：細胞濃度 1×10^4 個/mlで光リアクター中で培養を開始したチノリモは、10日で細胞濃度 8×10^6 個/mlに達した。このとき、1回目のチノリモ懸濁液の抜き取りを行った。新たに同量の培地を加えて培養を継続すると、5日後に細胞濃度が同レベルに復帰し、さらに8日後に細胞濃度が 1.4×10^6 個/mlまで達したので2回目の懸濁液抜き取りを行った。以上の光リアクター内の細胞濃度変化を図2に示す。抜き取ったチノリモ懸濁液は冷却連続遠心器で回収し、2回分で湿重量約200gのチノリモが回収できた。

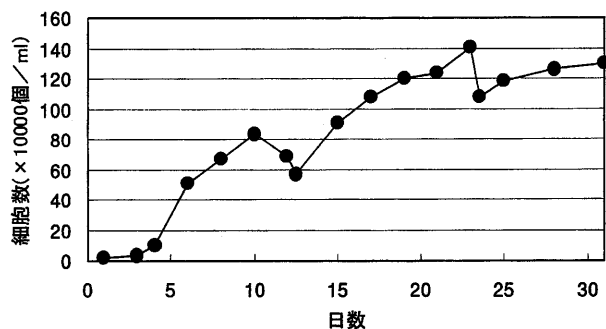


図2 光リアクター内の細胞濃度変化

チノリモの機能成分分析：各研究機関によって分析されたチノリモの成分及び生理活性を表1に示す。この結果より細胞毒性はなく、アルテミア致死活性、抗酸化活性やβカロチン類似の赤色素が認められ、産業的に利用できる可能性が示唆された。

海洋深層水からの微細藻類分析：海洋深層水研究所内で分離された紅色微生物はらん藻であったが種の特定まではできなかった。

トゲキリンサイの培養試験：1999年6月から2000年1月までと2000年6月から9月までの野外水槽におけるトゲキリンサイの日間生長率と培養温度を図3に示す。1999年は流量の調整を行わなかったため気温の変動と共に水温が変動し、日間生長率も大きく変化した。2000年度はなるべく20℃になるように調整したので1-2%の安定した生長率が得られた。

4. 考察

チノリモには深層水でよく増殖するものとしないうちがあることがわかった。フラスコレベルでの培養ではガラスビーズなどでフラスコ内壁への付着を防ぎながらよく懸濁したかたちで増殖させることで増殖率や細胞収量が向上することがわかった。しかし、付着を防ぐことがどうして増殖率の向上を導くのかはわからない。

上記の培養条件で光リアクターを使えば、 $1.2-1.4 \times 10^6$ 個/ml程度の細胞濃度で増殖率が低下してくるので、この濃度で回収し、新たな培地を供給して再び増殖させ、回収するというサイクルを繰り返せば連続してチノリモ細胞を回収できることが示された。新たな培地の供給からおおよそ3日でもとの濃度に復帰するので3日毎に40Lの懸濁液を回収すればよい。

チノリモの成分、生理活性は現在も研究が継続中であるが、有機溶媒による抽出物にはアルテミア幼生に対する致死活性や、抗酸化活性等が認められ、生理活性物質の供給源として期待がもたれた。

表 1

供給先	試験項目	結果
高知大学理学部・越智研究室	1.アルテミア幼生に対する致死活性	ヘキサン抽出液に弱い活性、酢酸エチル抽出物に顕著な活性あり
	2.蚕幼虫に対する成長阻害活性	全ての抽出物に顕著な活性はなし
	3.抗酸化活性	ヘキサン抽出物に比較的強い活性あり
	4. 抗菌活性	
	Bacillus subtilis(グラム陽性菌) Escherichia coli(グラム陰性菌) Saccharomyces cerevisiae(酵母菌) Pencillium crustosum(糸状菌)	全ての抽出物に顕著な活性なし
徳島大学薬学部・楠見研究室	1.不飽和脂肪酸の分析	リノレイン酸を中心とする高不飽和脂肪酸
	2.グリセライドの分析	不飽和脂肪酸とグリセリンのエステル
	3.色素の分析	β カロチン類似化合物および長波長光を吸収するカロテノイド微量な赤色色素が検出された
	4.ステロイドの分析	フィコステロール類似体
	5.細胞毒性試験	メタノール抽出液には毒性なし

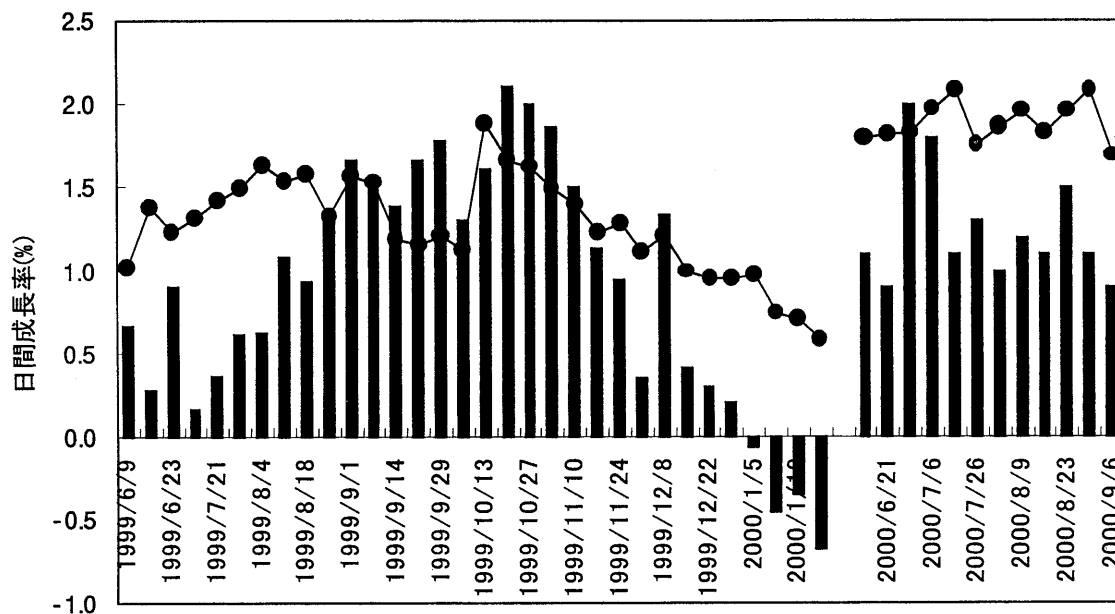


図 3 トゲキリンサイの日間生長率

チノリモの光リアクターによる培養には、他の生物を除去したろ過海水が必要になる。そのとき、夾雑物の多い表層水では培養液を作成するためのフィルターが目詰まりを起こしやすいが、深層水では目詰まりが起りにくく容易にろ過海水を得ることができる（清浄性）。実用レベルでの海水大量使用を考えた場合、清浄な深層水は培養液に最適な海水である。

海洋深層水の性質として清浄性が挙げられるが、これは微細藻類がほとんど生育しないことを意味している。深層水には珪藻類が認められる場合があるが、おそらく珪酸質の固い殻で覆われた珪藻が沈降しやすいことと関係していると思われる。有光層以深から汲み上げた深層水から微細紅藻類を分離することは困難であった。

トゲキリンサイの培養では、海洋深層水が周年、低水温で安定しているので夏でも養殖することができた（低温安定性）。トゲキリンサイは自然条

件下では夏の高温期には消失してしまうが、海洋深層水を利用し、20℃前後に保つことで、消失が防げる上に1-2%の日間生長率を得られることがわかった。天然では春にのみ収穫できる海藻が深層水陸上養殖を行うことで周年生産が可能になる。

海洋深層水の特長である清浄性はバッチ法による大量培養時に必要となる大量ろ過海水作製でのフィルターが目詰まりが起りにくいので適している。また、低温安定性は表層水が高温になり多くの海藻が消失する夏期に、海藻を生長させることができる。以上のように海洋深層水の特長は藻類培養に非常に有用であることが確認された。ただし、藻類をバッチ法で培養しようとする場合、深層水の有する富栄養性のみでは不十分であり、栄養塩を添加する必要がある。流水飼育の場合は深層水のみでの飼育で十分であった。