

## 6. 海洋深層水を用いた海洋性渦鞭毛藻の培養実験

○端口佳宏・魚住嘉伸・中川光司(赤穂化成株式会社)、  
津田正史(高知大学 海洋コア総合研究センター)

### 1. 目的

海洋産アンフィジニウム(*Amphidinium*)属渦鞭毛藻からはこれまでに、抗がん剤リード化合物をはじめとしてユニークな二次代謝産物が数多く単離されてきた。アンフィジニウム属渦鞭毛藻の室戸海洋深層水を用いて得られた培養藻体から、抗腫瘍性活性あるいは細胞増殖促進作用を示すポリケチド化合物が数多く発見されてきた。

本報告では、アンフィジニウム属渦鞭毛藻(以下、渦鞭毛藻)の増殖に及ぼす海洋深層水の影響を確認するため、培養実験を実施したので報告する。

### 2. 方法

渦鞭毛藻の培養培地に使用する海水に、被検群は高知県室戸沖より採水した海洋深層水を用い、対照群は海産微細藻類用ダイゴ人工海水 SP(日本製薬(株))を実験室のイオン交換水を用いて調整した人工海水を用いた。この海水に、Provasoli の海水補強栄養剤を 1%(v/v)になるように添加し、全量を目開き 0.22  $\mu\text{m}$  のディスクフィルターに通水させてフィルター除菌し、「深層海水培地」または「人工海水培地」とした。

渦鞭毛藻の培養容器には、容量 120mL のクリーンカップと対応した透明の蓋を用いた。

クリーンカップに、各海水培地を 50mL 分注し、渦鞭毛藻数が 1000 匹/mL になるよう培地に撒いた。

渦鞭毛藻は、沖縄県西表島の潮間帯の砂泥より分離した KCA09051 株を用いて、空調 25°C 設

定の室内に設置した暗幕内で静置培養した。暗幕内部には光源(10W 白色蛍光灯 1 本)を設置し、照度 3000 ルクス(Lux METER LX-1000、メーカー: CUSTOM)の場所に、渦鞭毛藻を設置し、約 40  $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の光照射を行った。設置場所は適宜ローテーションした。照射サイクルは、明期 18 時間、暗期 6 時間のサイクルで行った。

渦鞭毛藻数は、顕微鏡(BX60、メーカー: OLUMPUS)と、血球計算盤(改良ノイバウエル盤)を用いて測定した。サンプルは、培地 10  $\mu\text{L}$  を測定直前に採集した。測定は、同じ検体で 3 回測定し、平均値を検体の渦鞭毛藻数とした。

試験は月曜日に開始し、渦鞭毛藻数の測定は、月・木曜日に実施した。試験期間は 3 週間とした。試験は n=2 で実施し、4 回繰り返した。

評価は、「比増殖速度」と「渦鞭毛藻数」を、「深層水培地」と「人工海水培地」で比較した。比増殖速度は、「 $\ln(M2/M1)/(T2-T1)$  (M1、M2: 渦鞭毛藻数。T1、T2: 渦鞭毛藻数測定日。)」の式を用いて計算した。

### 3. 結果

比増殖速度は、深層水培地群、人工海水培地群の両群において 7 日目までに最大値を示した。また、深層水培地群の比増殖速度は、対照培地群と比較すると大きい傾向がみられた。

また、比増殖速度が落ちる時点での渦鞭毛藻数は、対照培地群と比較して深層水培地群で多い傾向が見られた。

今後、どの成分が深層水による渦鞭毛藻の増殖亢進に寄与しているのかを調査したい。