

海藻類の組織培養

嵯峨直恒*

(1989年4月24日受理)

1. はじめに

藻類とは水棲の光合成独立栄養生活を営む下等植物を総称し、単細胞性のものと多細胞性のものがあり、大きさも顕微鏡でやっと識別できる微小なものから数十メートルの体長になる巨大なものまである。藻類は体制・大きさのほか、細胞構造・形態・生理・生活史などにおいて、たいへん多様性に富む分類群からなり、また生育場所も淡水・海水・湿地・氷雪上など変化に富む。

藻類は古くから光合成などの植物生理学や卵の初期発生などの植物発生学の優れた実験材料であった。また上記のように、藻類の諸形質が多様性に富むことから、藻類は形態形成・生活環の制御・比較生化学・遺伝などの基礎研究分野にもいくつかのユニークな実験系を提供してきた。一方、藻類とくに海藻類は、日本では古来から食用として珍重されてきており、海苔(ノリ)・昆布(コンブ)・和布(ワカメ)をはじめ、多くの種類の海藻が日本の食文化の中に定着している。このほか海藻類の用途としては、家畜の飼料・作物の肥料・医薬品・化粧品・食品添加物・工業原料などその用途は思いのほか多い。また近年は、化石エネルギー・天然資源の枯渇や急激な人口増加から予想される将来の食糧危機にそなえて、地球表面の2/3を占める海洋に降りそそぐ太陽エネルギーの有効利用をはかるための、海洋バイオマス資源としても藻類は注目されてきている。

海藻類の組織培養に関しては今までに数十報の報告があるが、これらを網羅した総説は残念ながらあまりない。また、本誌の読者諸氏の多くは高等植物の専門家であり、藻類にはなじみの薄い方も多いかと思う。この機会に筆者等の行ってきた研究を主として、海藻類の無菌

培養・組織培養について簡単に紹介する。

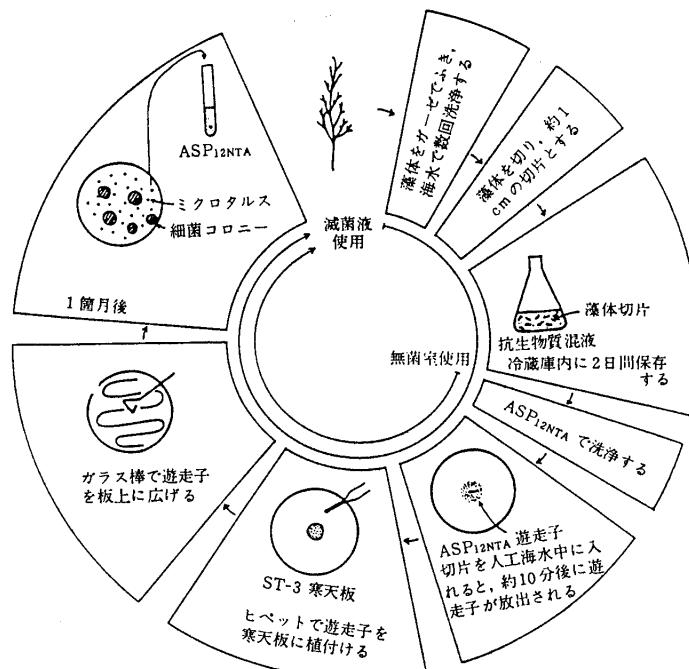
2. 海藻類の無菌培養

2.1 無菌株の入手と単離

研究材料として希望する海藻株を求める一番手軽な方法としては、既存の分譲を前提とした公的なカルチャーコレクションセンターに依頼することである。藻株のカルチャーコレクションセンターは世界中に数十箇所知られているが、系統種の収集・保存・分譲体制が充実し、株数も多い代表的なところをあげると UTEX や ATCC などである。日本国内では東大応微研や国立公害研があげられる。いずれの施設の株も無料か、きわめて廉価な手数料で入手できる。また、これらの施設にどのような藻株があるかを知るには、それぞれカルチャーコレクションリスト¹⁻⁴⁾が発行されているので参照されたい。しかし、これらのカルチャーコレクションはすべて淡水藻もしくは海産微細藻類が主体となっており、海産大型藻類(いわゆる海藻類)は、すべてのカルチャーコレクションを合わせても 100 種に満たなく、そのうち無菌株は皆無に近い状態である。したがって、既存のカルチャーコレクションセンターから海藻の無菌株入手するのが不可能な現状では、直接株を保持している研究者に分譲を依頼するか、または自分で単離しなければならない。

海藻類の無菌株の単離は比較的難しい。休眠胞子などの耐性細胞期をもつある種の淡水藻では容易に無菌株を得ることができるが、一般に海藻は耐性細胞期がなく、藻体も粘液質に富み、種々の微生物にかなり汚染されているので、特に困難である。藻類の無菌化の方法としては、ピペット洗浄法・寒天プレート洗浄法・紫外線照射法・超音波処理法・薬剤処理法などの手段がこれまでとられてきたが、ピペット洗浄法以外は、無菌化率の再現性で問題がある⁵⁾。また、ピペット洗浄法もたいへん手間暇がかかり特殊技術を要するというように、これぞというような簡単なルーチン技術はいまだなく、いわば職人芸的な“技”が要求される領域である。しかし近年、

* Naotsune SAGA: Tissue Culture of Marine Algae
水産庁北海道区水産研究所(〒085 北海道釧路市桂恋116番地)
Hokkaido Regional Fisheries Research Laboratory,
Fisheries Agency of Japan (116 Katsurakoi, Kushiro,
Hokkaido 085)



第1図 OSS 法の概要の模式図

第1表 おもな海藻用栄養強化海水原液の組成

	ES ^{†1, ⑧}	PES ^{†2, ⑨}	PESI ^{†2, ⑩}	ESS ^{†3, ⑪}
蒸留水	—	100 ml	100 ml	60 ml
海水	100 ml	—	—	—
NaNO ₃	10 mg	350 mg	350 mg	600 mg
Na ₂ ・グリセロリン酸	—	50 mg	50 mg	80 mg
Na ₂ HPO ₄ ・12H ₂ O	2 mg	—	—	—
Fe(as EDTA; モル比 1:1)	—	2.5 mg	2.5 mg	—
Fe・セキストレン	—	—	—	40 mg
金属混液 P II ^{†4}	—	25 ml	25 ml	40 ml
ビタミン B ₁₂	—	10 µg	—	—
チアミン	—	0.5 mg	—	—
ビオチン	—	5 µg	—	—
ESS 用ビタミン混液 ^{†5}	—	—	—	1 ml
土壤抽出物	5 ml	—	—	—
Tris	—	500 mg	500 mg	—
HEPES	—	—	—	1 g
KI	—	—	100 µg	—
pH	—	7.8	7.8	7.8

^{†1} ES 液は滅菌後、薄めずに使用する。^{†2} PES, PESI 原液を滌過海水 100 ml に対し、2 ml 加えて使用する。^{†3} ESS 原液を滌過海水 100 ml に対し、1 ml 加えて使用する。^{†4} 第2表の注参照。^{†5} ESS 用ビタミン混液の組成 (1 ml 中) : ビタミン B₁₂ (シアノコバラミン) 10 µg, ビオチン 10 µg, チアミン塩酸塩 1 mg, ニコチン酸 1 mg, パントテン酸カルシウム 1 mg, p-アミノ安息香酸 100 µg, イノシトル 10 mg, チミン 1 mg.

OSS 法（一段階選択法）⁶⁾ や、 OSAD 法（一段階抗生物質盤法）⁷⁾ という、 比較的簡便に海藻類の無菌株を単離できる方法が開発され、 欧米を中心に広く用いられるようになった。

次に OSS 法の概要を述べる。

1) 成熟している藻体をガーゼでふき、 減菌海水で数回洗い、 1 cm の切片とする。

2) 10 切片を 100 ml の抗生物質混液のはいったコルベンの中にいれ、 冷蔵庫内に 2 日間保存する。

3) この 1 切片を、 減菌人工海水のはいったシャーレの中に入れる。約 10 分後にたくさんの遊走子が放出される。

4) ピペットで遊走子をすくい、 ST 3 の寒天板上に 2~3 滴落とし、 ガラス棒で板上に広げる。

5) 1 カ月後、 発芽体は直径約 1 mm の分枝糸状体の固まりとなり、 混入した細菌は 3~5 mm のコロニーとなっている。細菌に汚染されていない藻体を 10 ml の ASP_{12NTA} のはいった試験管に移植する。

6) これらの藻体は 1 カ月後に直径約 3 mm のミクロタルスとなる。

このようにして得られた無菌株は、 ST 3, ASP-B 1, bouillon 検索培地で無菌テストを行った結果、 一般的に 90% 以上という高率で無菌化する。

以上の概要を模式図に示すと第 1 図のようになる。

2.2 培 地

海藻類の培地には大きく分けて、 海水をベースとした栄養強化培地と、 すべて既知の化学物質によりつくられた合成培地の 2 つがある。前者は海藻類の培養一般に使われるが、 後者は栄養要求性を調べたり、 生理・生化学研究用の材料を調整する場合などに使われる。第 1 表におもな栄養強化海水培地の組成についてあげた。Erd-Schreiber (ES) 培地⁸⁾ は古くから海藻類の培養一般に使われているが、 近年は、 緑藻や紅藻の培養に適する PES 培地⁹⁾ や、 褐藻の培養に適する PESI 培地¹⁰⁾ がより多く使われる。また、 有用海藻であるアマノリ類・コンブ類・アオノリ類などの種苗生産用の培地として開発された ESS 培地¹¹⁾ は、 紅藻、 褐藻、 緑藻の区別なく海藻一般の培養に適用できるので、 筆者らの研究室ではよく用いている。第 2 表にはおもな合成培地をあげたが、 Provasoli 一派がつくった ASP 系の合成培地は、 海藻類の無菌培養一般に適し、 緑藻には ASP₁, ASP₇¹²⁾, 紅藻には ASP₂, ASP₆¹²⁾, そして褐藻には ASP₁₂¹³⁾ がよく使われる。また、 KDX 培地¹⁴⁾ もアオサなどの緑藻の培養に使われる。しかし、 これらの合成培地を用いて海藻類の無菌培養ができるとはいえ、 基本的な成長一般は

確保できるが、 生活環を完結させたり特殊な形態形成が得られない場合も多くあり、 合成培地の改良が待たれる現状である。近年、 海水に含まれる微量成分や、 海水中の微生物や藻類に由来する成分に、 海藻類の細胞分化や形態形成を促す生理活性作用のあることが解明されてきており¹⁵⁾、 これらの研究は合成培地の完成に大きく貢献すると思われる。

2.3 培 養

それぞれの種に対する具体的な培養法の詳細については成書^{16~17)} に譲ることとし、 ここでは藻類の培養一般に共通する基本的事項のみ述べる。

培養容器には、 工業用タンク培養時以外は、 通常 100 l~1 ml の各種ガラス製培養容器（大型ジャー、 フラスコ、 シャーレ、 試験管など）が使われるが、 近年は減菌済みのプラスチック製容器も市販されるようになり、 筆者らの研究室でも省力化と研究用品の管理面の合理化をはかるため、 できるだけプラスチック容器に切換えている現状である。

培地としては前項で述べた培地などをそのまま液体培養に使用したり、 1 % 前後の濃度の寒天を添加して個体培養に使用したりする。液体培養の場合、 静置培養するのが一般的であるが、 特殊培養時には、 適当な振とう培養機を使用して振とう培養することもある。また、 通気培養も培地の攪拌作用のほか、 培地への CO₂ の供給効果もあり、 培養株の生長を促すときもあるので使われる。

海藻類の培養には、 培地のほか、 光や温度条件の設定が大切である。通常、 白色蛍光灯などの照明付きの恒温器や恒温室が用いられ、 温度は 5~30°C、 照度は 1,000 ~5,000 lux、 光周期は連続明期から連続暗期までのさまざまな条件の組合せを、 研究目的に応じて設定する。

植継ぎなどは適宜、 紹介培養用クリーンベンチなどで行うが、 細胞工学や遺伝子操作実験にはバイオハザード対応型のベンチなどを使用するようにしている。

3. 海藻類の組織培養

海藻類の組織培養は 1978 年に Chen と Taylor¹⁸⁾ によりツノマタ類の無菌藻体を用いて行われたのが最初である。また、 同年筆者等²⁶⁾ によりミツイシコンブのカルス様組織から単離された細胞からクローンコンプが作出された（第 2 図）。現在までに海藻類の組織培養に関しては第 3 表に示したとおり、 10 属 16 種について報告されている。初期の研究では偶然に生じたカルス様組織を海藻用の一般培地で培養するという初步的なものであったが、 組織培養専用の培地の整備や簡便な無菌培養法の開発により洗練された水準の研究へと進展が著しい。現在

第2表 おもな海藻用合成培地の組成 (100 ml 中)

	ASP ₁ ¹²⁾	ASP ₂ ¹²⁾	ASP ₆ ¹²⁾	ASP ₇ ¹²⁾	ASP ₁₂ ¹³⁾	KDX ¹⁴⁾
NaCl	2.4 g	1.8 g	2.4 g	2.5 g	2.8 g	1.9 g
Na ₂ SO ₄	—	—	—	—	—	0.32 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.6 g	0.5 g	0.8 g	0.9 g	0.7 g	—
MgCl ₂ ·6H ₂ O	0.45 g	—	—	—	0.4 g	0.87 g
KCl	0.06 g	0.06 g	0.07 g	0.07 g	0.07 g	—
Ca(as Cl ⁻)	40 mg	10 mg	15 mg	30 mg	40 mg	50 mg
NaNO ₃	10 mg	5 mg	30 mg	5 mg	10 mg	8.5 mg
(NH ₄) ₂ SO ₄	—	—	—	—	—	0.66 mg
K ₂ HPO ₄	2 mg	0.5 mg	—	—	—	—
K ₃ PO ₄	—	—	—	—	1 mg	—
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	—	—	—	—	—	0.7 mg
Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O	2.5 mg	15 mg	7 mg	7 mg	15 mg	—
NaCO ₃ ·H ₂ O	—	3 mg	—	—	—	—
NaHCO ₃	—	—	—	—	—	8.8 mg
グリセロリン酸ナトリウム	—	—	10 mg	2 mg	1 mg	0.14 mg
Fe(as Cl ⁻)	—	50 µg	—	—	—	—
金属混液 P II ^{†1}	1 ml	3 ml	—	3 ml	1 ml	—
金属混液 S II ^{†2}	—	—	—	—	1 ml	—
金属混液 P8 ^{†3}	—	—	1 ml	—	—	—
ビタミン B ₁₂	0.02 µg	0.2 µg	0.05 µg	0.1 µg	0.02 µg	—
ビオチン	—	—	—	—	0.1 µg	—
チアミン塩酸塩	—	—	—	—	10 µg	—
ビタミン混液 S3 ^{†4}	—	1 ml	—	1 ml	—	—
ビタミン混液 8A ^{†5}	0.05 ml	—	0.1 ml	—	—	—
KDS 液 ^{†6}	—	—	—	—	—	1 ml
KDTM 液 ^{†7}	—	—	—	—	—	1 ml
トリスアミノメタン	0.1 g	—				
グリシルグリシン	—	—	—	—	—	75 mg
pH	7.6	7.8	7.6	7.8~8.0	7.8~8.0	8.3~8.4

^{†1} 金属混液 P II の組成 (1 ml 中) : Na₂·EDTA 1 mg, Fe(as Cl⁻) 0.01 mg, B(as H₃BO₃) 0.2 mg, Mn(as Cl⁻) 0.04 mg, Zn(as Cl⁻) 0.005 mg, Co(as Cl⁻) 0.001 mg.

^{†2} 金属混液 S II の組成 (1 ml 中) : Br(as Na⁺) 1 mg, Sr(as Cl⁻) 0.2 mg, Rb(as Cl⁻) 0.02 mg, Li(as Cl⁻) 0.02 mg, Mo(as Na⁺) 0.05 mg, I(as K⁺) 0.001 mg.

^{†3} 金属混液 P8 の組成 (1 ml 中) : Nas-versenol 3 mg, Fe(as Cl⁻) 0.2 mg, B(as H₃BO₃) 0.2 mg, Mn(as Cl⁻) 0.1 mg, Zn(as Cl⁻) 0.05 mg, Co(as Cl⁻) 0.001 mg, Mo(as Na⁺) 0.05 mg, Cu(as Cl⁻) 0.002 mg.

^{†4} ビタミン混液 S3 の組成 (1 ml 中) : チアミン塩酸塩 0.05 mg, ニコチニ酸 0.01 mg, パントテン酸カルシウム 0.01 mg, プ-アミノ安息香酸 1 µg, ビオチン 0.1 µg, イノシトール 0.5 mg, 葉酸 0.2 µg, チミン 0.3 mg.

^{†5} ビタミン混液 8A の組成 (1 ml 中) : チアミン塩酸塩 0.2 mg, ニコチニ酸 0.1 mg, プトレッシン二塩酸塩 0.04 mg, パントテン酸カルシウム 0.1 mg, リボフラビン 5 µg, ピリドキシン二塩酸塩 0.04 mg, ピリドキサミン二塩酸塩 0.02 mg, プ-アミノ安息香酸 0.01 mg, ビオチン 0.5 µg, クエン酸コリン 0.5 mg, イノシトール 1 mg, チミン 0.8 mg, オロチニ酸 0.26 mg, ビタミン B₁₂ 0.05 µg, ホリニン酸 0.2 µg, 葉酸 2.5 µg.

^{†6} KDS 液の組成 (1 ml 中) : KBr 7.84 mg, KCl 54.2 mg, SrCl₂·6H₂O 1.95 mg, シアノコバラミン 0.01 µg, ビオチン 0.05 µg, チアミン塩酸塩 10.0 µg.

^{†7} KDTM 液の組成 (1 ml 中) : H·EDTA 668.4 µg, H₃BO₄ 1.14 mg, FeSO₄·7H₂O 199.0 µg, CuSO₄·5H₂O 3.9 µg, Na₂MoO₄·2H₂O 12.6 µg, MnCl₂·4H₂O 36.0 µg, ZnSO₄·7H₂O 44.0 µg, CoCl₂·6H₂O 4.0 µg, NH₄VO₃ 2.3 µg, KI 3.9 µg.

第3表 組織培養研究が行われている海藻

植物門	種名	内容	研究者
紅藻	<i>Agardhiella subulata</i> (アガルディエラ類)	組織培養	Cheney ら (1987) ¹⁸⁾
紅藻	<i>Chondrus crispus</i> (ツノマタ類)	組織培養	Chen・Taylor (1978) ¹⁹⁾
紅藻	<i>Gigartina exasperata</i> (スギノリ類)	組織培養	Sylvester・Waaland (1983) ²⁰⁾
紅藻	<i>Porphyra perforata</i> (アマノリ類)	単離細胞培養	Polne ら (1984) ²¹⁾
紅藻	<i>P. yezoensis</i> (スサビノリ)	組織培養および単離細胞培養	Zhao・Zhan (1981, 1984) ^{22, 23)}
褐藻	<i>Dictyosiphon foeniculaceus</i> (ウイキョウモ)	組織培養および単離細胞培養	Saga ら (1982) ²⁴⁾
褐藻	<i>Ecklonia stolonifera</i> (ツルアラメ)	組織培養	Notoya (1988) ²⁵⁾
褐藻	<i>Laminaria angustata</i> (ミツイシコンブ)	造胞体の単離細胞培養	Saga ら (1978) ²⁶⁾
褐藻	<i>L. angustata</i>	ディプロイドの組織培養	Saga・Sakai (1983) ²⁷⁾
褐藻	<i>L. angustata</i>	ハプロイドの組織培養	嵯峨・阪井 (1982) ²⁸⁾
褐藻	<i>L. digitata</i> (コンブ類)	組織培養	Fries(1980) ²⁹⁾
褐藻	<i>L. hyperborea</i> (コンブ類)	組織培養	Fries(1980) ²⁹⁾
褐藻	<i>L. japonica</i> (マコンブ)	組織培養	Fang ら(1983) ³⁰⁾ Li・Tan(1983) ³¹⁾ Chen(1984) ³²⁾
褐藻	<i>L. saccharina</i> (コンブ類)	組織培養	Lee(1985) ³³⁾
褐藻	<i>Macrocystis pyrifera</i> (ジャイアント・ケルプ類)	組織培養	Chen(1984) ³²⁾ 嵯峨(1989) ³⁴⁾
褐藻	<i>Sargassum muticum</i> (ホンダワラ類)	組織培養	Polne-Fuller ら (1986) ³⁵⁾
褐藻	<i>Sargassum heterophyllum</i> (ホンダワラ類)	組織培養	Mooney・van Staden (1985) ³⁶⁾
褐藻	<i>Fucus spiralis</i> (ヒバマタ類)	組織培養	Fries(1984) ³⁷⁾
褐藻	<i>Undaria pinnatifida</i> (ワカメ)	組織培養	Zhang(1982) ³⁸⁾ , Fang ら (1983) ^{38),} Chen(1984) ³²⁾
緑藻	<i>Enteromorpha intestinalis</i> (ボウアオノリ)	組織培養	Saga(未発表)

では海藻特有な糖や諸抽出物、そして植物ホルモンを添加することにより、ある種の海藻では再現性良くカルスや単離細胞を得たり、かつそれらを再分化させ、元と同質の藻体を作ることができる。しかも、再生されたこれらの藻体は生殖細胞を通してないので、遺伝情報の組換えがなく、理論的にはそれぞれがまったく同形質のコピーを多数作出できる。この技術 (micropropagation) を海産植物の育種や増養殖に導入した場合、ある特定の優秀な1株からたくさんの種苗をほしい時に、ほしいだけ、*in vitro* で確保できるという画期的な結果が期待できる(第3図)。

3.1 無菌組織の分離

海藻の組織培養は通常あらかじめ無菌化された培養株を用いて行うが、コンブ類などの大型海藻については直接藻体からコルクボーラーにより打ち抜かれた組織を用いてもよい。

ミツイシコンブを材料とした打抜き法²⁷⁾の概要は次のとおりである。

- 1) 藻体の茎状部を十分に洗浄し、5 cm くらいの長さにする。
- 2) 茎状部切辺の両端を100% エタノールに浸したのち、アルコールランプで少々焼き、5 mm ずつ切捨てる。
- 3) コルクボーラー(約4 mm 直径)で打ち抜いたのち、2 mm の厚さに切る。
- 4) このようにしてできたディスク状切片を50 ml のASPI_{12NTA} の寒天培地に植付ける。

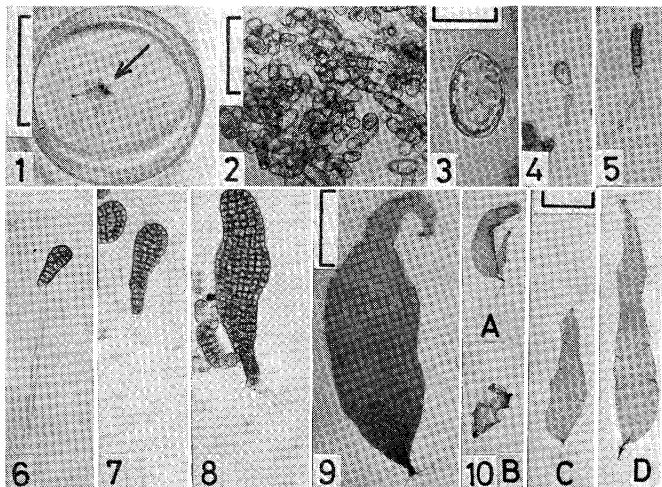
以上のような手順で得られたディスク状組織切片はほぼ100%の割合で無菌化し、あとでも述べるように1~2カ月すると切片にカルスが生じてくる。

3.2 培地

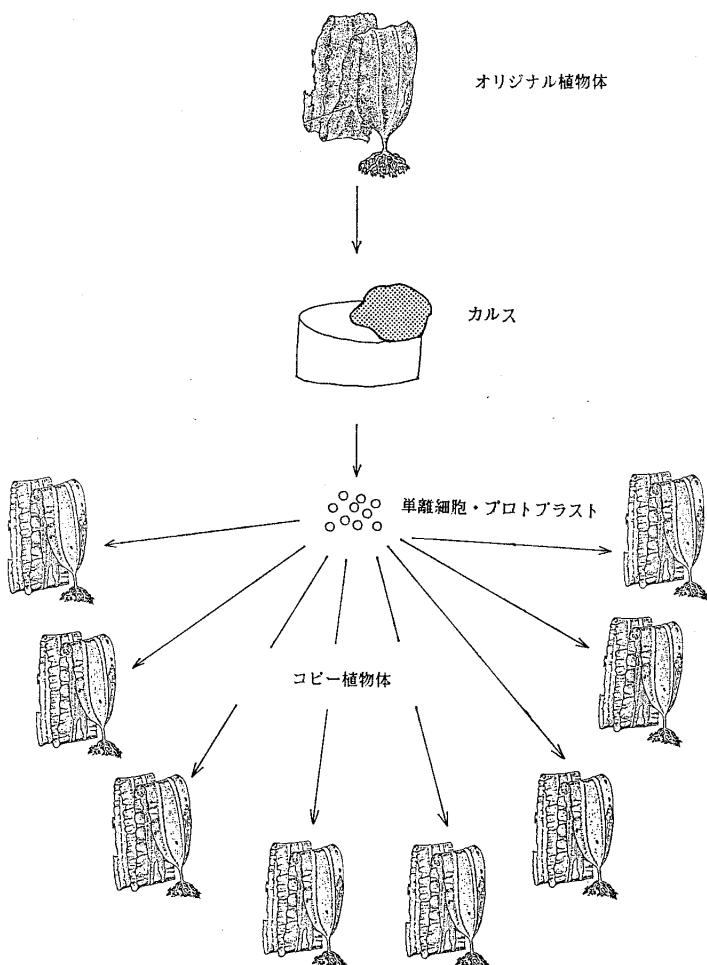
藻類の組織培養の培地としては、前節で述べた海藻用の合成培地に1%程度の寒天を添加したもの用いるが、カルス形成用には、適度な糖分や酵母抽出物を添加したASPC-1培地²⁴⁾(第4表)などを用いる。近年、Sagaは海藻の組織培養の共通基本培地としてASS₁(第5表)を開発し、これに材料により適当な糖分や栄養有機物を添加、調製した培地で紅藻・褐藻・緑藻にわたる数種で、カルス形成にある程度成功している(Saga, unpubl.)。

3.3 培養の実際例 (ウイキョウモの組織培養)²⁴⁾

ウイキョウモの無菌ミクロタルス(中性配偶体)をASPC-1培地を用い、温度14°C、照度2,000 lux, 14~10時間の光周期の恒温室内で培養すると、約2週間目に細胞が脱分化し始め、2カ月後には1 cm のカルス塊



第2図 単離細胞由來のクローニング
 (1)ミツイコンブ造胞体由来のカルス様組織(スケール: 5cm), (2)カルス様組織の細胞塊(スケール: 100 μm), (3)カルス様組織由来の単離細胞(スケール: 10 μm), (4)～(9)単離細胞の再生: (4)発生2日目; (5)3日目; (6)4日目; (7)5日目; (8)7日目; (9)30日目(スケール: 1mm), (10)コンブ抽出物による再生植物体の生長促進(A:無添加, B:10%抽出物添加, C:1%抽出物添加, D:0.1%抽出物添加)(スケール: 1cm), (4)～(8)は(2)のスケールを適用する。



第3図 細胞培養を利用したクローニング植物体の作出の模式

第4表 ASPC-1 培地²⁴⁾の組成 (100 ml 中, pH 7.8~8.0)

NaCl	2.8 g	P II 金属混液 ⁺¹	1 ml
KCl	0.07 g	S II 金属混液 ⁺²	1 ml
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.7 g	ビタミン B ₁₂	0.02 µg
MgCl ₂ ·6H ₂ O	0.4 g	ビオチン	0.1 µg
Ca (as Cl ⁻)	40 mg	チアミン塩酸塩	10 µg
NaNO ₃	10 mg	ニトリロ三酢酸	10 mg
K ₃ PO ₄	1 mg	Tris	0.1 g
Na ₂ グリセロリン酸	1 mg	マンニトール	3 g
Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O	15 mg	酵母抽出物	0.1 g
		寒天 ⁺³	1.5 g

⁺¹ 第2表の注参照.

⁺² 第2表の注参照.

⁺³ 液体培養時は省かれる.

第5表 ASS₁ 培地の組成 (100 ml 中, pH 8.0)

NaCl	2.5 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1.0 g
KCl	70 mg
CaCl ₂ ·2H ₂ O	110 mg
NaNO ₃	10 mg
Na ₂ グリセロリン酸	2 mg
NaHCO ₃	10 mg
ASS 用ビタミン混液 ⁺¹	0.1 ml
ASS 用金属混液 ⁺²	1 ml
HEPES	100 mg

⁺¹ ASS 用ビタミン混液の組成 (0.1 ml 中): チアミン塩酸塩 10 µg, ニコチニン酸 10 µg, プトレッシン二塩酸塩 1 µg, パントテン酸カルシウム 10 µg, リボフラビン 1 µg, ピリドキシン二塩酸塩 1 µg, ピリドキサミン二塩酸塩 1 µg, D-アミノ安息香酸 1 µg, ビオチン 0.1 µg, イノシトール 100 µg, クエン酸コリン 10 µg, チミン 10 µg, オロチ酸 10 µg, シアノコバラミン 0.1 µg, 葉酸 0.1 µg, ホリニン酸 0.01 µg.

⁺² ASS 用金属混液の組成 (1 ml 中): Fe(Fe⁺セキストレンとして; 括弧内以下同様) 100 µg, B(H₃BO₃) 100 µg, Mn(Cl⁻) 100 µg, Zn(Cl⁻) 10 µg, Co(Cl⁻) 1 µg, Mo(Na₂MoO₄) 10 µg, Cu(Cl⁻) 1 µg, Br(K⁺) 1 mg, Sr(Cl⁻) 100 µg, Rb(Cl⁻) 10 µg, Li(Cl⁻) 10 µg, I(K⁺) 1 µg.

となる。このようにして生じたカルスは比較的のちく、振とう培養により容易に数十個から数個の細胞塊となり、同時に単細胞のものも得ることができる。これらの細胞塊や単細胞は、分化培地にもどしてやると再び発生を開始する。

4. おわりに

近年、海藻類の培養細胞を利用した染色体工学や海藻類からのプロトプラストの単離・細胞工学、そして海藻類の遺伝子組換え研究も、筆者らの研究室をはじめ行わ

れるようになり、また、海藻類の培養細胞を用いたファインケミカルズの生産³⁹⁾や、バイテク技術による海藻類の育種などの応用的研究⁴⁰⁾も展望できるようになったが、紙面の都合上詳細は省略する。

次に、海藻類の組織培養研究の効率的推進に必要ないくつかの課題をあげておく。

- 1) 海藻類の細胞・組織培養の基本的手法の更なる開発、とくに分化や脱分化などの基本的な生長の素過程を調節する生理活性物質の探求。
- 2) 海藻のプロトプラスト単離法および培養法の改良、とくに褐藻や紅藻の細胞壁を溶かす特殊な酵素を効率的に生産する細菌や菌類の探査。
- 3) 海藻の遺伝子組換え技術の開発、とくにこれらの技術を底辺で支える海藻遺伝学の確立と、海藻に有効なベクター系の探査。
- 4) 細胞融合が起こったハイブリッド細胞や、外来遺伝子が組み込まれた形質転換細胞の特異的検出・選択法の開発。

文 献

- 1) Starr, R. C., 1978. J. Phycol., **14** (Suppl.): 47-100.
- 2) Anonymous, 1982. Catalogue of Algae, Bacteria, Bacteriophages, Fungi, and Protozoa, ATCC, MD, U.S.A.
- 3) 市村輝宜, 伊藤忠夫, 1977. 微生物の保存法(根井外喜男編), p. 354-373, 東京大学出版会, 東京。
- 4) 渡辺 信, 笠井文絵編, 1985. 国立公害研究所微生物系統保存施設保存株リスト, 第1版: 微細藻類, 環境庁国立公害研究所, つくば。
- 5) 嵐城直恒, A. Gibor, 1986. 植物バイオテクノロジー(山田康行, 岡田吉美編), p. 55-71, 東京化学同人, 東京。
- 6) Saga, N., Y. Sakai, 1982. Jpn. Phycol., **30**: 40-43.
- 7) Bradley, P. M., D. P. Cheney, N. Saga, 1988. Plant Cell Tissue Organ Cult., **12**: 55-60.
- 8) Föyn, B., 1934. Arch. Protistenkd., **83**: 1-56.
- 9) Provasoli, L., 1968. In "Cultures and Collection of Algae" (ed. by Watanabe, A., A. Hattori), p. 63-75, Jpn. Soc. Plant Physiol., Kyoto.
- 10) Tatewaki, M., 1966. Phycologia, **6**: 62-66.
- 11) Saga, N., Y. Sanbonsuga, 1988. NOAA Technical Report NMFS, **70**: 45-52.
- 12) Provasoli, L., J. J. A. McLaughlin, M. R. Droop, 1957. Arch. Microbiol., **25**: 392-428.
- 13) Provasoli, L., 1963. Proc. Intl. Seaweed Symp., **4**: 9-17.
- 14) Bonneau, E. R., 1977. J. Phycol., **13**: 133-140.
- 15) Saga, N., 1986. Sci. Pap. Inst. Algol. Res.,

- Fac. Sci., Hokkaido Univ., 8: 31-61.
- 16) 西沢一俊, 千原光雄編, 1979. 藻類研究法, 共立出版, 東京.
- 17) Stein, J. R. (ed.), 1973. Handbook of Phycological Methods, Cambridge University Press, London.
- 18) Cheney, D. P., E. Mar, N. Saga, J. van der Meer, 1987. J. Phycol., 22: 238-243.
- 19) Chen, L. C. M., A. Taylor, 1978. Can. J. Bot., 56: 883-886.
- 20) Sylvester, A. W., J. W. Waaland, 1983. Aquaculture, 31: 305-318.
- 21) Polne, M., M. Biniaminov, A. Gibor, 1984. Proc. Intl. Seaweed Symp., 11: 308.
- 22) Zhao, H., X. Zhan, 1981. J. Shandong Coll. Oceanol., 11: 61-66.
- 23) Zhao, H., X. Zhan, 1984. J. Shandong Coll. Oceanol., 8: 197-202.
- 24) Saga, N., T. Motomura, Y. Sakai, 1982. Plant Cell Physiol., 23: 727-730.
- 25) Notoya, M., 1988. Jpn. J. Phycol., 36: 175-177.
- 26) Saga, N., T. Uchida, Y. Sakai, 1978. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 44: 87.
- 27) Saga, N., Y. Sakai, 1983. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 49: 1561-1563.
- 28) 嵯峨直恒, 阪井與志雄, 1982. 日本植物学会北海道支部大会講演要旨集, 31, p. 8-9.
- 29) Fries, T., 1980. J. Phycol., 16: 475-477.
- 30) Fang, T., Z. Yan, Z. Wang, 1983. Kexue Tongbao, 28: 247-249.
- 31) Li, J., S. Tan, 1983. Oceanol. Limnol. Sinica, 14: 488-495.
- 32) Chen, J., 1984. Mar. Fish. Res., 6: 27-33.
- 33) Lee, T. F., 1985. Bot. Mar., 28: 179-185.
- 34) 嵯峨直恒, 1989. 化学と工業, 41: 94-97.
- 35) Polne-Fuller, M., N. Saga, A. Gibor, 1986. Beih. Nova Hedwigia, 83: 30-36.
- 36) Mooney, P. A., J. van Staden, 1985. S. Afr. J. Bot., 51: 41-44.
- 37) Fries, L., 1984. Can. J. Bot., 62: 1616-1620.
- 38) Zhang, J., 1982. J. Shandong Coll. Oceanol., 12(3): 29-38.
- 39) 嵯峨直恒, 1989. バイオインダストリー, 6: 534-548.
- 40) 嵯峨直恒, 1987. 水産育種, 12: 25-44.