

## ノリプロトプラストの再生に及ぼすストレプトマイシンの影響

岩淵 光伸・福永 剛  
(有明海研究所)

### Effect of Streptomycin on Regeneration of Isolated *Porphyra* Protoplasts

Mitsunobu IWABUCHI, Takeshi FUKUNAGA  
(Ariakekai Laboratory)

ノリのプロトプラストを寒天培地で培養する場合、試料採取母体としての葉体の無菌化が困難であるために、寒天培地中に抗生物質を添加するのが一般的である<sup>1)</sup>。しかし、抗生物質の種類によっては、プロトプラストの再生に影響を与えることが予想される。しかしながら、培地に含まれる抗生物質が、再生形態に及ぼす影響についての報告はなく、また培地組成とノリプロトプラストの再生形態との関係について実験した報告もない。今回ストレプトマイシンについて実験したところ、その濃度によってはプロトプラストの再生形態に影響を与えることが明らかとなったので報告する。

#### 材料および方法

プロトプラストを単離するための母藻には、有明海柳川市沖で1991年10月5日に採苗後、同海域で育成し、10月31日に冷凍保存したナラワササビノリ(品種名フクオカ1号)を用いた。この冷凍葉体を18℃の滅菌海水中で解凍後、4日間ES培地で通気培養して生長の良好な1個体を選び、その中央部を切り出して供試した。酵素処理は1.0%パパイソ溶液に30分間、0.05%アルカリヘミセルラーゼ溶液に2時間浸漬して行った。プロトプラストを洗浄した後、 $7 \times 10^4$  個/ml

に密度を調整し、アガロース1.2%を含むSWM-Ⅲ改変培地(土壌エキス、肝エキスを除く)5mlに加えてペトリシャーレに混植した。培地が固化した後、その上からSWM-Ⅲ改変培養液10mlを重ねてプロトプラストを培養した。これらの培地中にはベンジルペニシリンカリウム0.1mlとストレプトマイシン硫酸塩を0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 1.0 mg/mlの5段階の濃度になるように加えた。培養条件は温度20℃、照度2,000 lx., 日長周期10 L 14 Dに設定した。再生形態を7~10日間隔で観察し、また任意の50視野中の個体を観察することによって生残率を求めた。

#### 結果および考察

培養開始後の生残率を図1に示した。

培養33日目における生残率はストレプトマイシン硫酸塩濃度1.0 mg/ml区で54%と最も低かった。しかし、その他の濃度区では大きな差は認められず、70~85%の高い生残率を示した。

培養33日目における再生個体を形態別に3種類に分類してその出現割合を求め、表1に示した。

プロトプラストの形態は、培養途中に単胞子を放出して発芽した二次芽発芽体、単胞子を放出せずにカルス状の細胞塊となりさらに多数の仮根を

表1 培養33日目におけるアマノリプロトプラストの再生形態別割合(%)

ストレプトマイシン濃度(mg/ml)	2次芽発芽	有根個体	その他	糸状体発芽
0.0	79.2	9.7	11.1	43.1
0.05	85.9	4.7	9.4	25.0
0.1	54.9	34.1	11.0	18.7
0.2	29.1	63.3	7.6	10.1
0.4	7.7	74.4	17.9	1.5
1.0	0.0	100.0	0.0	0.0

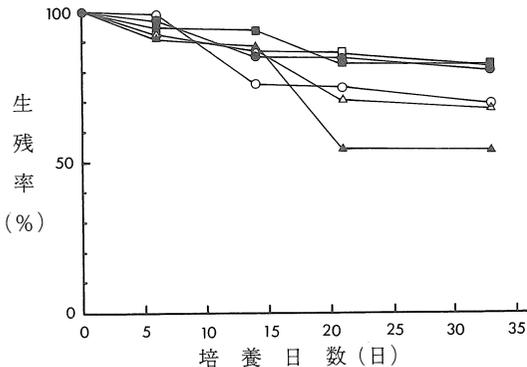


図1 ストレプトマイシン硫酸塩濃度別の生存率の推移

○ : 0 mg/ml   ● : 0.05 mg/ml   □ : 0.1 mg/ml  
 ■ : 0.2 mg/ml   △ : 0.4 mg/ml   ▲ : 1.0 mg/ml

発生させた有根個体、およびその他の個体である。また、プロトプラストの再生中に成熟して自家受精したために発生したと思われる糸状体が確認され、その個体の割合も合わせて表1に示した。対照区と0.5 mg/ml区では80%以上の個体が二次芽発芽体となったが、ストレプトマイシン濃度が高くなるにしたがって二次芽発芽体の出現数は減少し、有根個体の割合が高くなった。特に1.0 mg/mlの高濃度では二次芽発芽体は全く見られなかった。また糸状体の形成についてもストレプトマイシンの濃度が高くなるにしたがって低下した。

プロトプラストの再生形態には、多くの要因が関与しているものと考えられる。すなわちプロトプラストの材料となる母藻の品種や葉令、培養条件等プロトプラストを単離する以前の履歴、そしてプロトプラストを単離した後の培養条件などである。これらの条件によってプロトプラストは多様な再生形態を示す<sup>2, 3)</sup>。このため、ノリのプロトプラストの再生形態について、培地の組成条件

との関連性を報告したものはこれまで見あたらない。

今回、ストレプトマイシンはノリのプロトプラストを致死させる事なく、その再生形態に影響を及ぼすことがわかった。ストレプトマイシンは、RNAの読み違いによって蛋白質の合成阻害が起こり、殺菌的作用を表すものである<sup>4)</sup>。ストレプトマイシンがノリのプロトプラスト再生形態に及ぼした影響が、細菌類に作用するのと同様のRNA読み違い作用によって生じたのかは明らかでなく、今後の研究を待たねばならない。しかし、ある物質がノリの細胞にどのような影響を与えるのかを調査する実験系として、プロトプラスト培養系が非常に有効であることが本実験から示され、ノリの生理学的研究に対する進展が期待される。

## 文 献

- 1) 佐々木和之・岩淵光伸：ノリのプロトプラスト、単離細胞及び組織片の培養による優良株クローン種苗化技術開発研究，昭和62年度地域バイオテクノロジー研究開発促進事業報告書。
- 2) 川村嘉応・馬場裕文・中武敬一：ノリのプロトプラスト、単離細胞及び組織片の培養による優良株クローン種苗化技術開発研究，昭和62年度地域バイオテクノロジー研究開発促進事業報告書。
- 3) 岩淵光伸・福永剛：ノリのプロトプラスト、単離細胞及び組織片の培養による優良株クローン種苗化技術開発研究，平成2年度地域バイオテクノロジー研究開発促進事業報告書。
- 4) 牧野利一：抗生物質入門 富士書院，札幌，1986。