

# 珪藻細胞へのポリリン酸顆粒蓄積のための培養条件に関する研究

社会開発システム工学科 環境計画研究室 田村 淳

## 背景

### リンが枯渇すると...

- ・産業分野において悪影響
- ・生物が生存できない
- ・海外がリン輸出停止

リンの再利用を図り  
資源循環の取組強化が重要

## 目的

- ・リン鉱床の起源と言われている珪藻でリン枯渇によるポリリン酸蓄積の増加の確認
- ・より多くのポリリン酸顆粒を蓄積する培養条件を明らかにする
- ・細胞内のどこにポリリン酸を蓄積させるかの確認

## 実験方法



図1 *Chaetoceros gracilis*

### 培養条件

温度: 20°C  
照度: 約5000lux  
振とう速度: 90rpm  
6時~18時: 明  
18時~6時: 暗

### 観察実験

DAPI染色

共焦点レーザー  
走査型顕微鏡で観察

励起波長: 405nm, 蛍光波長: 420-520nm

### 定量実験

細胞密度:  $3.0 \times 10^6$  cells/mL



DAPI染色により定量 → 10<sup>4</sup>cellsあたりのポリリン酸含量を求める  
※励起波長415nm, 蛍光波長550nm

- ・P除去の時間
  - ・再添加後の培養時間
  - ・再添加のP比率
- 変更培養条件

## 実験結果

### 培養結果

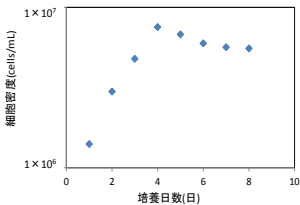


図2 増殖曲線

- ・約  $7.5 \times 10^6$  cells/mL で増殖停止
- ・増殖停止後, 細胞密度減少

### 定量結果

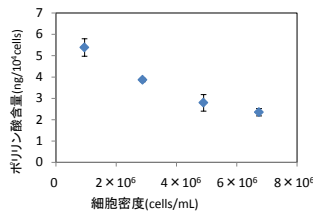


図3 増殖過程のポリリン酸含量(10<sup>4</sup>cellsあたり)

- ・対数増殖期初期の細胞が多くポリリン酸を蓄積した
- ・P除去前のポリリン酸含量を  $3.5 \text{ ng} / 10^4 \text{ cells}$  とした

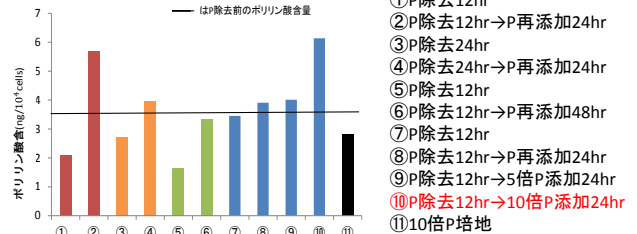


図4 リン飢餓のストレスを与えた細胞のポリリン酸含量

- ・リン枯渇のストレスを与え, リンを再添加するとポリリン酸を多く蓄積する
- ・+P培地 → P除去12時間 → 10倍P添加後24時間の培養条件でポリリン酸含量が高い

### 観察結果

- ・ポリリン酸含量の高い細胞は強い発色
- ・細胞内の黒い部分にポリリン酸を蓄積

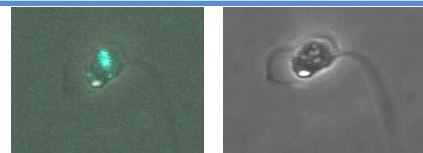


図5 染色した細胞

## まとめ

- ・リンを除いてストレスを与え, リンを再添加するとポリリン酸を多く蓄積する
- ・+P培地 → P除去12時間 → 10倍P添加24時間の培養条件のポリリン酸含量が最も高い
- ・珪藻を+P培地で培養し, 対数増殖期初期にポリリン酸を抽出すると効率が良い