クロレラエキスの細胞分裂促進作用

Promotive Effect of Chlorella Extract on Cell Division of Microorganisms

(昭和 41 年 12 月 12 日 受 理)

西 土 井 睦
(Mutsumi Nishidoi)

In the previous studies, it was reported that Chlorella extract contained growth promoting substance for microorganisms.

Several experiments have been carried out with *Tetrahymena pyriformis-W* and *Saccharomyces cerevisiae*.

It is concluded that, 1) growth-promotion is accomplished chiefly by increasing of cell number rather than enlargement of cell size, and 2) promoting effect of chlorella extract is superior to that of yeast extract.

Both extracts were fractionated by Sephadex G-25, and a fraction specific in Chlorella extract was found to be the most effective in growth of microorganisms.

ま え が き

クロレラは単細胞の緑藻類の一種であって蛋白質含有量が高く(約 50%), しかも良質(アミノ酸バランスが良い)であることから食糧(主として蛋白源), 飼料および宇宙旅行での食糧, ガス交換体としての利用研究が進められている。飼料に数パーセント混合して動物実験がなされた結果から, 現在ではクロレラは単に食糧源, 蛋白源としてでなく, 動物の成長を促進させる効果を持つものとして利用されてきている。筆者らは, その成長促進効果はクロレラ中の微量成分に基因するとの観点から, それを抽出したクロレラエキスの成長促進効果を原生動物(テトラヒメナ)を用いて研究した。一般には類似の組成を有するものと考えられているイーストエキスと効果の比較を検討した。

実験材料と方法

- 1) 原生動物: *Tetrahymena Pyriformis-W*
- 2) 培 地: 3%ペプトン水
- 3) 培養方法: 30°C, 2~3日 静置培養
- 4) エキス添加濃度: イーストエキス (Y.E.), クロレラエキス(C.E.), とともに紫外吸光260 m μ で調整添加した。
- 5) 成長量測定:
 - a) 細胞数 (Cell number=C. N.), トーマ寒天平板法

- b) 乾燥重量 (Dry weight=D. W.), 遠沈, 水洗後, 105°C 乾燥, 恒量
 - c) 充填細胞容積 (Packed cell volume=P. C. V.)
- 6) 分子分画: Sephadex G-25, 溶離液は蒸留水
C. E., Y. E. とともに 10 g/l に溶解, 吸着させる。

実験結果と考察

- 1) C. E. と Y. E. の紫外吸光スペクトル
クロレラエキス (C.E.) とイーストエキスは一般分析では組成的にほとんど差は認められないとの観点から, 同一乾燥重量の水溶液を作り, その紫外吸光スペクトルを測定した結果を図1に示す。

図1. C. E., Y. E. のUV 吸収スペクトル

この図から C. E. には 235 m μ に極少, 260 m μ に極大値があり, 核酸関連物質を含んでいることが解った。Y. E. もほぼ同一のパターンを示すが, 核酸関連物

質の含有量は C.E. より少ない。C.E. 中の含有量を 1 とすると 0.65 に相当する。

2) C.E. と Y.E. の成長促進効果

ペプトン培地 (3% ペプトン水溶液) に C.E. および Y.E. を添加し、30°C で 3 日培養した場合の C.N., D.W. および P.C.V. の結果を図 2 に示す。C.E. および

図 2. C.E., Y.E. の成長効果

Y.E. の添加濃度は 260 mμ の吸光度で調整した。C.E. の添加量を増せば、ほぼ比例的に成長促進効果が認められるに反して、Y.E. は添加してもほとんど効果はない。C.E. の効果も D.W. に比較して C.N. と P.C.V. に効果が顕著であることが特徴である。この結果から C.E. の成長促進効果は細胞分裂を促進させる機構に作用しているものと考ええる。C.N. と P.C.V. とが異常に増加するにもかかわらず、D.W. があまり増加しなかったのは現培地では細胞数に適合した栄養分がなかったことに原因がある。

3) C.E. および Y.E. の分子分画

紫外吸収パターンに大差がないにもかかわらず、成長促進効果に顕著な効果の差が認められる原因を究明するために Sephadex G-25 (分子篩) を用いて、両エキスの分子分画を行なった。C.E. でのパターンを図 3 に、

Y.E. での結果を図 4 に示す。

図 3. C.E. の Elution Pattern

図 4. Y.E. の Elution Pattern

C. E. にはAフラクションがBフラクションとは同じくあるが、Y. E. ではAフラクションが非常に少なくほとんどがBフラクションであった。

4) 分画AおよびBの成長促進効果

C. E. および Y. E. のフラクションAによるテトラヒメナの成長とエキス添加量との関係を図5に、フラクションBでの結果を図6に示す。C. E. の効果は分画前と同じく、細胞数では7倍、P. C. V. では4.5倍と成長促進効果をもたらし、比較的效果の薄かったD. W. にも5倍の促進効果をもたしていることが特色である。Y. E. は全く成長促進効果を持たないことが解った。

フラクションBの効果は分画前と傾向が類似しており、C. E. の効果は分画Aがより効果を有しており、Y. E. の効果は主として分画Bによるものであることが解った。分画前と分画後の両結果から C. E. と Y. E. とは異質のものであると断定できる。核酸関連物質の濃度でエキス添加量を調整しており、全乾燥エキス中の核酸含有量も Y. E. が少ない(図1参照)ので、両エキスの添加量を乾燥重量で調整すると成長促進の効果の差はより顕著になる。

一般分析(栄養分析)によつては差のない

両エキスを、実際にはその本質において非常に異なっているということが解った。クロレラも暗培養すると細胞分裂促進効果が低い実験結果から、暗培養ではイースト的なクロレラができることが解る。明培養をすることによってクロレラに特有の微量成分が合成されることが解った。

5) クロレラエキスと S-H 代謝

細胞分裂に際しては細胞内の S-H 基が非常に重要な役割を演ずることが知られているので、C. E. の S-H 代謝におよぼす影響について検討した。S-H 代謝を阻害する薬品の代表的なものとして Cu^{+2} と Se^{+2} を取り、C. E. を添加することによって阻害効果が抑制されるかどうかについて検討した結果を図7に示す。

Cu^{+2} は C. E. なしでは阻害的に働くが、C. E. が共存すると 10^{-3}M 以上の濃度では阻害的に 10^{-4}M 以下の濃度ではほとんど阻害効果を示さなくなることが解った。

Se^{+2} のもつ阻害効果は非常に著しいが、やはり C. E. が共存することによって阻害効果は減少してくる。その阻害減少率も C. E. の共存濃度に比例していることが解

図5. Fraction A の成長効果

図6. Fraction B の成長効果

図7. C. E. と S-H 阻害剤

った。

以上の実験結果から C. E. は細胞分裂を支配する S-H 代謝に十分作用していることが解り、細胞分裂の機構に

作用するものであることが推測できる。

ま と め

食糧源、蛋白源として、また光合成の媒体として研究されてきたクロレラには成長促進物質が含まれていることが解った。その物質は一般分析ではほとんどイーストエキスを類似しているが、その生物学的効果において非常に異なっていることが解った。

その有効物質は光合成を行なうことによって生産されるものであって、クロレラであっても暗培養したものでは非常に少ないことが解った。

成長促進効果も細胞分裂を促進させることに特徴がある。しかし培地が分裂速度に適していないことに原因があるようで、培地組成さえ検討すれば全重量も細胞数の増大に比例して増加するものである。

クロレラエキスとイーストエキスは化学分析（現状の）では区別できないが、分子篩によって簡単に分別で

き、しかも効果の差が明確にし得ることが解った。

あらゆる生物が生細胞の集団で、かつ細胞の分裂によって生命を維持していることから考えると、クロレラエキスはあらゆる生命の根源を与えてくれるものであるといえる。

人間を含めた高等動物に対して成長促進効果が認められているが、それは単にクロレラの蛋白質質量でも必須アミノ酸のバランスだけでもなく、むしろ細胞分裂が促進されることにあるのではあるまいか。したがってクロレラだけで全栄養を吸収する必要はなく、むしろ栄養価（カロリーではない）を高める効果を利用すべきである。最近のクロレラは、単に蛋白源としてだけ注目されているのではなくなった。

クロレラの消化率が論議されていたが、むしろ変敗によることが多かったが、現在では研究、培養および処理技術が発達して来たので変敗などはほとんど考えられない。

（クロレラ工業株式会社開発部）

噴霧乾燥による草葉たんぱく質の濃縮物

アルファルファおよびエンドウ豆の茎葉の汁液を噴霧乾燥して草葉たんぱく質の濃縮物を作った。この濃縮物は原材料がアルファルファの場合、たんぱく質 30% 以上、せいの 1% 以下であるので、非反すう獣の飼料に用いられる。これをさらに 95% エタノールで抽出すれば人間の食糧とすることも可能である。アミノ酸分析の結果、原料によるアミノ酸パターンの相異は認められなかった。制限アミノ酸はメチオニンだが、全アミノ酸に対する百分比では、フィッシュミールよりは少ないとはいえず、他のどの高たんぱく飼料よりも大である。同様の比較で、トリプトファンは各種飼料中最大であり、その他の必須アミノ酸はフィッシュミールを除いて同等あるいはそれ以上である。ペプシン-パンクレアチン消化試験の

結果、アルファルファ汁液の噴霧乾燥物の生物価はラクトアルブミン、牛乳と同等で、カゼイン、牛肉、イースト、大豆よりは高い。ビタミンについては、 β カロチンは他の飼料に比して多量に存在し、チアミンは綿実粕と同じ程度でありその他の飼料よりは多量に含まれている。ビタミン保持の見地からも噴霧乾燥は有効な手段といえる。毒性物質のサポニン、フェノール化合物は可溶性のものばかりとは限らないので、汁液中に多量に存在するおそれはない。（表 4）

Leaf Protein Concentrate Prepared by Spray-Drying.

by Hartman, G. H. Jr., Akesson, W. R., Stahmann M. A.: *J. Agr. Food Chem.*, 15, 74~79 (1967)

（飼持）