

II-530 枯草菌Rec-assayによる環境中のDNA損傷性物質の評価

京都大学大学院 学生員 仙波範明
京都大学工学部 正会員 松井三郎

1. はじめに

今日、様々な化学物質による河川の汚染が進行している。これらの中には、微量であっても発ガン等有害な影響を引き起こす可能性のあるものも存在している。しかし、化学物質の数が非常に多いことや複合的な影響が明らかでないため、その対応は十分ではない。そこで、近畿圏の多くの人々の飲料水の水源であり、また上流の都市下水によって汚染された水を下流で上水の水源としているという点でも重要な河川である淀川水系の河川水について、枯草菌Rec-assay液体法を用いてDNA損傷性を調査した。

2. 実験方法

淀川水系の採水地点を図1に示す。河川水を変異原性試験にかける際には濃縮が必要であるが、今回はXAD-2樹脂を用いて濃縮を行った。河川水は、採水時にガラスウールで、実験室に運んだ後東洋ろ紙No.5Aにより浮遊物を除き、洗浄済みのXAD-2樹脂50mLをつめたカラム(26mmφ×320mm)に通水吸着する。通水速度は通水開始後1時間は8mL/min、1時間後から2時間後までは12mL/min、その後は12~16mL/minとした。通水終了後、窒素ガスを通して水分を除去し、エタノール、ジエチルエーテルを用いて超音波で抽出する。そして、抽出液からロータリーエバポレーターで溶媒を除去し、残渣をDMSOに溶解し濃縮試料とする。

なお、Rec-assayは代謝活性酵素S-9mixを添加しない直接試験のみを行い、結果はプロビット理論によって解析した。

3. 結果および考察

Rec-assayの結果を表1に示す。同一地点で採水日の異なる2つの試料のある楠葉については、楠葉1、楠葉2と区別した。なお、濃縮倍率は楠葉2が1200倍(18L→15mL)、それ以外の試料は1800倍(18L→10mL)である。

試験結果より算出されたS-Probit値から、今回試験した河川水のDNA損傷性を定性的に判断すると、楠葉2が陽性(+)、それ以外はすべて強陽性(++)となり、すべての試料についてDNA損傷性が認められた。このうち宇治橋の試料についてはRec+菌の十分な致死効果を得ることができず、V50Rec+(Rec+菌の50%致死量)の値が非常に大きくなってしまい、過大な評価になっていると思われるが、かなり強いDNA損傷性物質の存在を示唆していると考えられる。

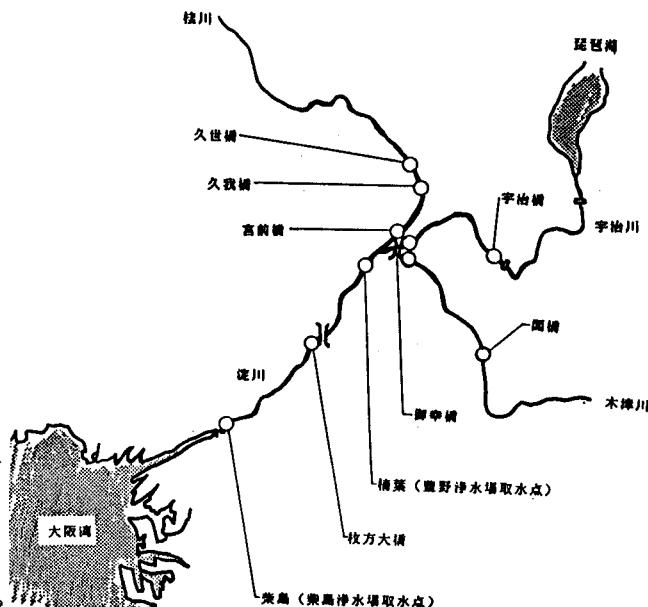


図1 採水地点

また、S-ProbitをV50Rec-で除した値であるRec-volumeの変化を図2に示す。これより、DNA損傷性物質の河川中での動態について考察すると、概ね上流から下流へとRec-volumeが増加する傾向にあるといえる。このうち桂川については、久世橋から宮前橋までのわずか7.5kmの間にRec-volumeが急増している。これは久世橋と久我橋の間にある京都市の下水処理場や久我橋と宮前橋の間で合流

する鴨川、西高瀬川の影響が考えられ、京都の都市下水中に存在するDNA損傷性物質に起因していると思われる。なお、楠葉の値が小さくなっているのは、非DNA損傷性物質の増殖阻害のためと考えられる。

Rec-volumeと現在広く用いられている有機物による汚染の指標であるBOD、KMnO₄消費量を比較する¹⁾と、その間に特に相関はみられなかった。今回の採水地点のうち最上流に位置する宇治橋、開橋と最下流の柴島について、BOD、KMnO₄消費量では下流

の値が上流の1.5倍程度であるのに対して、Rec-volumeでは8倍から12.3倍になっている。このことからBOD等従来の水質指標値では汚染の程度が大きないと判断されても、それらでは捕らえることのできないDNA損傷性物質の存在していることが考えられる。

表1 試験結果～プロビット理論による解析値～

	V50Rec+ (mL)	V50Rec- (mL)	S-Probit (-)	Rec-Volume (1/L)
宇治橋	46140	43.79	6.044(++)	138.0
御幸橋(宇)	20.79	2.537	1.827(++)	720.1
開橋	122.9	18.99	1.624(++)	85.52
御幸橋(木)	111.0	6.416	2.478(++)	386.2
久世橋	519.9	18.37	2.903(++)	158.4
久我橋	35.45	3.886	1.920(++)	494.1
宮前橋	48.47	3.738	2.225(++)	595.2
楠葉1	10.43	3.227	1.018(++)	315.5
楠葉2	28.89	16.94	0.4643(+)	27.41
枚方大橋	148.0	2.420	3.572(++)	1476
柴島	140.1	3.062	3.321(++)	1085

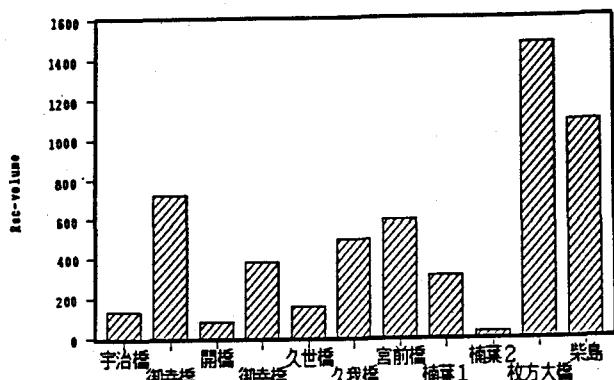


図2 淀川水系のRec-volume

参考文献

- 1) 大阪市水道局水質試験所調査研究ならびに試験結果、昭和63年度版