

枯草菌 *Rec-assay* による山口県宇部市近郊環境水のDNA損傷性試験

山口大学工学部 学生員○土岡真樹

山口大学工学部 正 員 浮田正夫

山口大学工学部 正 員 関根雅彦

1. はじめに 近年、人々の健康や自然環境に対する関心の高まりに伴い、水環境中に含まれる微量有害化学物質による汚染が注目を集め、飲料水の安全性確保のためにもその適切な対策が要求されている。現在、一般的に河川や湖沼などの汚濁の程度は、BOD、CODによって表されているが、微量有害化学物質の評価指標とはなり得ない。また、GC/MS等の微量分析技術の進歩は著しいが、その測定結果を用いて生物に対する影響を評価することは難しい。枯草菌 *Rec-assay* は、京都大学の松井らによって河川や湖沼などの環境水に適用され、同氏らはDNA損傷物質による汚染の評価方法の開発を進めている。枯草菌 *Rec-assay* は、検定物質とDNAとの複雑な相互反応による様々な損傷を検出する事が出来る。そこで、我々は微量有害化学物質がその水域の生物に与える影響を考えるために、枯草菌 *Rec-assay* によるDNA損傷性試験を山口県宇部市周辺の環境水について適用して、その実験結果を分析・検討を行った。

2. 枯草菌 *Rec-assay* の原理 物理的、化学的諸要因で生じたDNA損傷の大部分は、細胞のDNA修復機能によって修復される。枯草菌野生株 *Rec+* 菌はDNAに傷を受けたとしてもそれを修復することが出来るが、D

NA修復機能を欠いた欠損株 *Rec-* 菌は修復機能が劣るため、仮に検定試料がDNA損傷性を持っている場合、図1のように *Rec+* 菌と *Rec-* 菌の生存

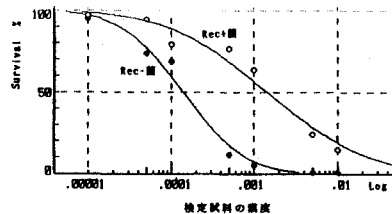


図1 検定試料にDNA損傷がある場合の生存率

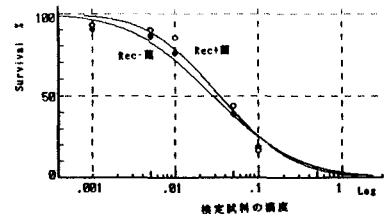


図2 検定試料にDNA損傷がない場合の生存率

率に差が生じ *Rec-* 菌の方が強い増殖阻害を受け、生存率も低くなる。また、検定試料にDNA損傷性がない場合、図2のように両株は同一の増殖阻害を受けるため生存率に差は生じない。このDNA損傷による両株の増殖阻害曲線のずれによって検定試料のDNA損傷性を検出する。

3. 実験方法 試料濃縮方法及び *Rec-assay* 法の概要をそれぞれ図3、図4に示した。また、DNA損傷性の評価には *Rec-volume* という指標を用いた。 *Rec-volume* は次の式で定義される。

$$Rec-volume = (S - Probit) / (C_{50} Rec-)$$

ここで、 *S-Probit*: +, - 菌の生存率曲線によって囲まれる面積

C50 Rec-: *Rec-* 菌の50%の致死に必要な検定試料濃度

4. 結果及び考察 調査地点を図5に実験結果を表1に示した。図5において9の宇部市の常盤湖と11の山口市内を流れる吉敷川下流の *Rec-volume* 値が他の調査地点よりもはるかに大きくなった。一般的に、河川水

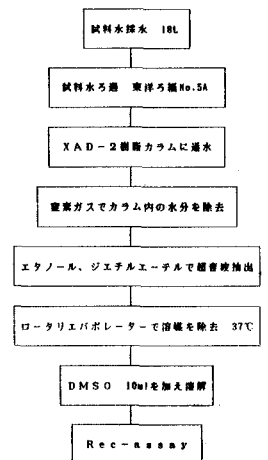


図3 試料濃縮手順

などの環境水中に有機化学物質が存在する場合、油分中に存在する確率が高く、地点9の吉敷川の上流から流れ出ている油分中に含有されていた有機化学物質によってそのRec-volume値が高くなったのではないかと推測できる。また、DNA損傷物質の河川中での動態について考察すると、1の太田川から2の厚東川ダムそして3の宇部港へと下流に向かうにしたがってRec-volume値がしだいに増加しており、汚染が進行していく様子が分かる。実験結果において最も注目される傾向としては、ダム湖で貯水され富栄養化した水は高いDNA損傷性を示していることである。厚東川ダム小野湖についてみると、流入河川のひとつである太田川のRec-volume値が3であるのに、ダムサイトでは308に上昇している。川上ダム阿武湖では、その上流の長門峡の229に対し、ダムサイトでは422と上昇している。また、富栄養化が著しい常盤湖では1873という大きな値を示している。これらのデータは富栄養化すれば、DNA損傷性がそれだけ増加するのではないかと示唆している。通常、原水が富栄養化して浄水過程の塩素消毒により生ずるトリハロメ

タンが発ガン性が問題にされることは多いが、富栄養化した原水それ自身がすでにDNA損傷

性が大きくなる傾向があることは非常に注目されることである。

今後、データを積み重ねて確認する必要がある。茶畑のRec-volume値は427と比較的高い値が検出されているが、ゴルフ場排水は100程度の値を示しており、これは農業汚染よりも一般的な富栄養化を我々はむしろ問題にすべきであるという可能性を示している。もし、この傾向が確実な事実であるとするならば、水源であるダム湖の富栄養化対策について、我々はより真剣に取り組む必要があると言える。

5. おわりに 以上より、a) ダム湖などのような貯水され富栄養化した水は、高いDNA損傷性を示す傾向がある。b) 従来用

いられている一般的な水質指標値に比べ、Rec-volume値は非常に変動範囲が広く水質の違いをより細かく評価する事が可能である。という結論を得た。

〔参考文献〕（1）松井三郎他：下水処理水中の微量化学物質と水質保全、平成3年度土木学会環境にやさしい下水道のあり方に関する調査研究委員会（2）松井三郎：The Basillus subtilis/Microsome Rec-assay for the Detection of DNA-Damaging Substances in Waters of a Night Soil Treatment Plant、京都大学工学部環境微量汚染制御実験施設活動報告 第1号、16～36、1988（3）植村振作：農薬毒性の事典、三省堂、230～241

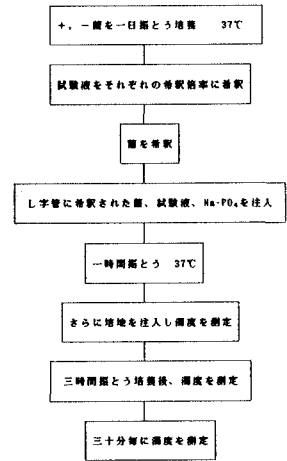


図4 Rec-assay法の概要

表1 実験結果

河川名 採水点	採水日	Rec-volume	COD (mg/l)	TOC (mg/l)	NO ₂ -3-N (mg/l)	K _J -N (mg/l)	T-N (mg/l)	T-P (μg/l)
1. 小野湖流入河川 太田川	92.11.16	3	-	-	-	-	-	-
2. 厚東川ダム	92.11.11	308	-	-	-	-	-	-
3. 厚東川下流	92.11.11	339	-	-	-	-	-	-
4. 割木松茶畑	92.11.11	427	-	-	-	-	-	-
5. 宇部CC阿知須北コース	92. 8.11	109	-	-	-	-	-	-
6. 宇部CC阿知須北コース	92. 9.29	115	-	-	-	-	-	-
7. 宇部CC阿知須北コース	92.10.12	50	1.84	2.26	0.12	0.19	0.32	19
8. 真綿川下流	92.11.16	313	-	-	-	-	-	-
9. 常盤湖	93. 1.20	1873	-	-	-	-	-	-
10. 一の坂川下流	92.12.17	16	2.84	2.21	0.65	0.41	1.06	92
11. 吉敷川下流	92.12.17	1436	2.90	2.04	0.92	0.75	1.67	120
12. 楊野川洗井堰	92.12.17	9	2.49	1.78	0.86	1.40	2.36	170
13. 長門峡出口	92.12. 9	229	2.18	1.83	0.54	0.22	0.76	31
14. 阿武湖	92.12. 9	422	1.35	1.60	0.36	0.19	0.62	31
15. 萩 松本川	92.12. 9	44	0.92	2.30	0.30	0.18	0.48	20
16. 広島県 太田川	92.12. 4	73	1.06	-	0.28	0.47	0.75	41
超純水	-	6	-	-	-	-	-	-
重クロム酸カリウム	-	14825	-	-	-	-	-	-

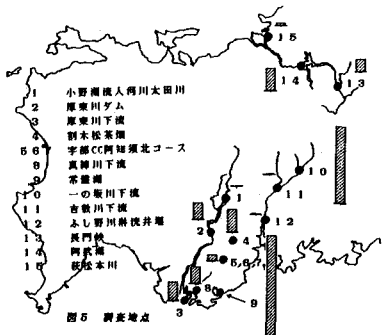


図5 調査地点