

金沢大学工学部

○青木 喜隆 (学)

松井 三郎 (正)

帽子山明彦 (学)

徳島 英和 (学)

1. はじめに

現在、水質汚濁防止のために、 BOD_5 、 COD などの一般有機指標と有害物質について、その水質基準が水質汚濁防止法で指定されているにすぎない。公共水域に放流される産業排水や都市下水中には、生物個体に急性あるいは慢性毒性などの身体的影響を与えるものだけでなく、遺伝的影響を与える物質が含まれている可能性もある。そこでこのような物質を検索し、産業排水や都市下水を放流するに当って遺伝的影響について評価する方法の開発が必要になってくる。最近、琵琶湖や霞ヶ浦などの内陸水系では産業排水や都市下水が混入した水を下流で再度上水道源として利用するなど、水の高度循環利用が高まっており、このようなことが、この研究の必要性を高めている。

2. 実験原理

生物細胞のDNAに損傷が生じると細胞致死の原因になると共に突然変異生成の原因となるが、損傷の多くは細胞の有する修復能力によって補修されることが知られている。ところが最近、微生物で修復能力を遺伝的に欠損した菌株が多数分離されるようになった。これらの修復能力欠損株はDNA損傷を修復できないので修復能力を有する野生株に比べてDNA損傷誘発物質(環境変異原)に暴露すると著しく死にやすくなる。この原理を利用して野生株と修復能力欠損株との致死感受性の差を調べることによってDNA損傷の有無を知ることができる。

一般に修復機構は除去修復と組換え修復の2つの型に分けて考えられる。除去修復はDNAの損傷部位を酵素的に切り出し、部分的にDNA合成を行ない元のDNAに修復するものである。一方、DNA損傷の多くは一次的あるいは二次的に組換え修復される。そして組換え修復欠損株は除去修復型よりも広いスペクトルの変異原の検出を可能にする。この致死感受性法は突然変異活性を直接検出するものではないが、それよりはるかに高感度でDNA損傷の有無を調べることができる。

3. 実験方法

本研究に使用する微生物は枯草菌で、野生株としてNIG17 (trp^- , arg^-)、修復能力欠損株としてNIG45 (trp^- , arg^- , rec^-)を使った。ここで、 trp^- はトリプトファン要求性、 arg^- はアルギニン要求性、 rec^- は組換え能力欠損を示している。

L字管にnutrient broth (肉エキス3g, 酵母エキス5g, ペプトン5gを蒸留水1000mlに溶解したもの)を5ml注入し、これに前培養したNIG17とNIG45(希釈したもの)を0.4ml加え、さらに検査物質を0.6ml添加し37°Cで振とう培養する。コントロール(検査物質を添加しないもの)の濁度が100に達した時、いっせいに濁度を測定し、各濃度における増殖阻害度曲線を描く。また、両株のコントロールの増殖の50%阻害を与える検査物質濃度比Rも、DNA損傷性の強さを表わす目安となる。(表を参照)

4. 実験結果および考察

検査物質は変異原である(1)マイトマイシンC、変異原ではないが抗生物質の(2)カナマイシン、および(3)8種類の重金属である。

(1)マイトマイシンC (MC) MCの増殖阻害度曲線を図1に示す。MCはDNA合成酵素の働きを阻害したり、DNA鎖を崩壊したりする作用はなく、DNAに直接作用して何らかの損傷を与えDNA複製反応の鑄型となり得ない状態に導く化学変異原である。従ってNIG 17とNIG 45の増殖阻害濃度には著しい差がみられる。図1のパターンはDNA損傷性を有する物質の典型図である。

(2)カナマイシン (KM) KMの増殖阻害度曲線を図2に示す。KMはDNA損傷性はなく、蛋白質合成を特異的に阻害して微生物の増殖を阻止する物質である。従ってNIG 17とNIG 45の増殖に同じ程度の阻止効果が現われるので、増殖阻害濃度差はほとんどみられない。図2のパターンはDNA以外の細胞機構に作用して増殖を阻止する物質の典型図である。

(3)-1 6価クロム (Cr^{6+}) Cr^{6+} の増殖阻害度曲線を図3に示す。図からわかるように Cr^{6+} のパターンはMCの場合に類似している。従って、 Cr^{6+} はDNA損傷性を有すると考えられる。また Cr^{6+} の50%阻害濃度比(表を参照)は12.0で、MCの7.0に比べてかなり大きい値を示すことより、 Cr^{6+} はMCとは異った機構でDNA損傷を誘発させると推察される。

(3)-2 Hg, Cd, Mn, As, Cu, Zn, Pb これらの重金属の増殖阻害度曲線は、KMの場合とパターンが類似しているので、DNA損傷性はなく、蛋白質合成やその他の細胞代謝機構における障害性が強いと考えられる。図4にHgの増殖阻害度曲線を示す。

5. まとめ

水質汚濁防止法で法的規制を受ける重金属について環境変異原性を調べた結果、6価クロムにDNA損傷性が認められ、その他の重金属については認められなかった。

本研究では、個々の重金属についてDNA損傷性の有無を調べたがこれらの重金属は産業排水や都市下水中に単独で存在することはない。何種類もの重金属が同時に含まれているので、今後、重金属の相乗効果についての研究が必要である。

〈参考文献〉(1)田島弥太郎他“化学物質の突然変異性検出法”講談社サイエンティフィク1973 (2)賀田恒夫“環境変異原の検出方法の進歩とその利用”公害と対策、Vol.12, No.4, 1976 (3)賀田恒夫“Potential Carcinogens検出に関する最近の知見、医学のあゆみ、85巻、8号、1973

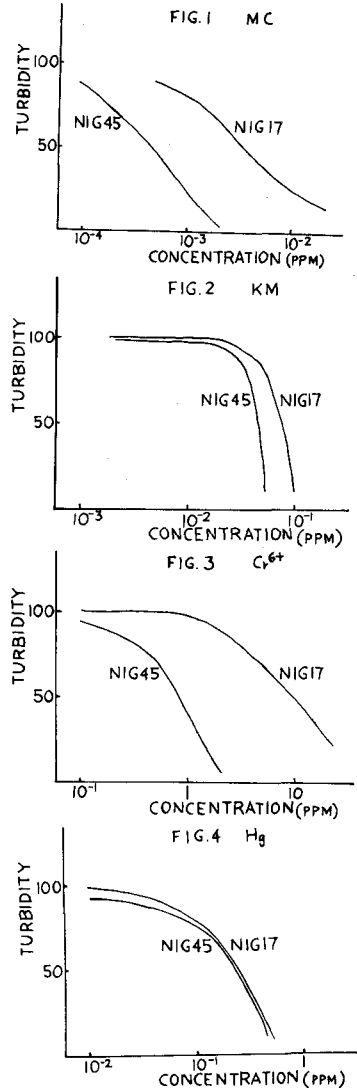


Table 検査物質とその50%阻害濃度比

MC	7.0	Mn	1.7
KM	1.7	As	1.0
Cr^{6+}	12.0	Cu	1.3
Hg	1.0	Zn	1.0
Cd	1.2	Pb	