

金沢大学工学部 ○青木 喜隆 (学)

松井 三郎 (正)

紀古 正彦 (学)

1. はじめに

水質の安全性は急性毒性や慢性毒性などの現世代を対象とした問題のとりえ方ばかりでなく、環境変異原性という次世代以後への影響も含めて評価する必要があると思われる。ここで環境変異原とは、我々の身の回りに存在して生物に突然変異をもたらす物質であり、遺伝子にも作用して遺伝に影響を及ぼす恐れのある物質である。そこで国立遺伝学研究所の賀田恒夫博士の開発した寒天培地による Rec-Assay 法を改良した液体培地による Rec-Assay 法を適用して単一物質（主に重金属）の変異原性を調べ、前回の発表会で報告した。しかし、工業廃水や都市廃水はその特徴から同時に多数の化学物質を溶かし込んでいるので変異原性を示すとしても単一物質によるものばかりでなく、複数の物質が相互に作用し合って変異原性を示す（変異原性の相加効果）場合も考えられる。そこで今回は変異原性の相加効果について調べた。

2. 実験方法

突然変異を誘起する物質は DNA と当然反応するはずである。また DNA に損傷が生じるとその程度によっては細胞致死の原因となる。枯草菌の組換え修復欠損株は野生株に比較して化学変異原に暴露すると致死感受性が高い。なぜなら修復欠損株は DNA に生じた損傷を全く修復できないからである。この関係を基礎にして化学変異原をスクリーニングする。この方法は突然変異活性を直接調べるかわりに野生株と欠損株の致死効果を調べることによって変異原性の有無を評価するものであり、Rec-Assay と呼ばれる。実験には野生株として NIG 17 (Rec⁺)、欠損株として NIG 45 (Rec⁻) を用いた。この二株は修復能力だけに特徴を持ち、他のすべての遺伝的性質は全く同じである。

実験方法は、L 字管に *nutrient broth* 5 ml、前培養した枯草菌を 0.4 ml、化学物質を 0.6 ml 注入し、37°C で振とう培養する。コントロール（化学物質を含まない）の濁度が 100 に達した時、全ての試験管の濁度を測定し、各濃度に対する濁度をプロットして増殖阻害曲線を描く。増殖阻害曲線において 50% 阻害濃度の比 ($C_{50}Rec^+/C_{50}Rec^-$) を求める。ここで $C_{50}Rec^+$ は NIG 17、 $C_{50}Rec^-$ は NIG 45 の 50% 阻害濃度である。単一物質の DNA 損傷性を調べた結果、典型的な DNA 損傷性物質として知られているマイトマイシン C よりも 6 価クロムが強い DNA 損傷性を示したので、6 価クロムをベースとしてそれにマイトマイシン C、水銀、カドミウムを添加して DNA 損傷性の強さに変化が見られるか調べた。

3. 実験結果および考察

(1). 6 価クロムだけの場合

実験は Rec⁺ については、 10^{-1} 、 2×10^{-1} 、 5×10^{-1} 、1、2、5、10、20、50 ppm、Rec⁻ については、 10^{-2} 、 2×10^{-2} 、 5×10^{-2} 、 10^{-1} 、 2×10^{-1} 、 5×10^{-1} 、1、2、5 ppm の濃度で行なった。増殖阻害曲線を図 1 に示す。50% 阻害濃度比を求めると 8.7 である。

(2) 6価クロムにマイトマイシンCを添加した場合

6価クロムの濃度を Rec^+ については、 10^1 , 2.5×10^1 , 5×10^1 , 1, 2.5, 5, 10, 25, 50 ppm, Rec^- については、 10^2 , 2.5×10^2 , 5×10^2 , 10^1 , 2.5×10^1 , 5×10^1 , 1, 2.5, 5 ppm と変え、添加するマイトマイシンCの濃度を 2.5×10^{-4} , 5×10^{-4} と2段階に変化させて実験した。増殖阻害曲線を図2に示す。(1)の6価クロムだけの場合と比較するとマイトマイシンCの添加による増殖阻害は Rec^+ よりも Rec^- に大きく現われている。すなわち、添加するマイトマイシンCの濃度が高くなるに従い CsoRec^+ よりも CsoRec^- の値が低濃度域へ大きくシフトして、その結果50%阻害濃度比が8.7, 11.0, 17.6と著しく増している。これはマイトマイシンC自身がDNA損傷性があるので、それに6価クロムのDNA損傷性が相加作用してDNA損傷性を強めたと考えられる。この結果から廃水中に複数のDNA損傷性物質が存在するとそれらの相加効果によりDNA損傷性を強める可能性があると思われる。

(3) 6価クロムに水銀を添加した場合

6価クロムの濃度は(2)の場合と同じように変え、添加する水銀の濃度を 5×10^2 , 10^1 ppmの2段階に変化させて実験した。増殖阻害曲線を図3に示す。水銀自身にはDNA損傷性は見られなかったが、添加することにより50%阻害濃度比は8.7, 12.3, 13.2と増している。しかし水銀濃度を高くすると、 CsoRec^+ と CsoRec^- が同じ程度に低濃度域へシフトして(2)の場合のような明確な特徴は見い出せない。

(4) 6価クロムにカドミウムを添加した場合

6価クロムの濃度は(2)と同じように変え、添加するカドミウムの濃度を 5×10^3 , 10^2 ppmと変化させて実験した。カドミウム自身にはDNA損傷性は見られず、添加することによる増殖阻害も Rec^+ と Rec^- に同じように現われ、50%阻害濃度比も8.7, 7.7, 9.3と変化がない(図4)。

4. まとめ

6価クロムをベースとしてDNA損傷性の相加効果について調べた結果、DNA損傷性物質を組み合わせた場合は、DNA損傷性は強まり、DNA損傷性物質にDNA損傷性を示さない物質を添加した場合は、DNA損傷性は強まらないと思われる。

図1

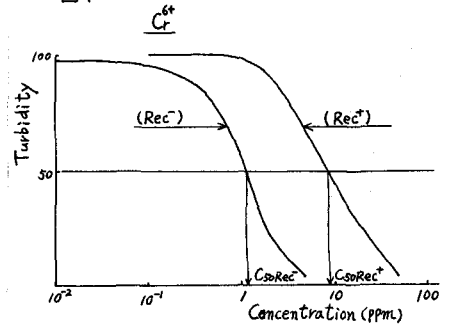


図2

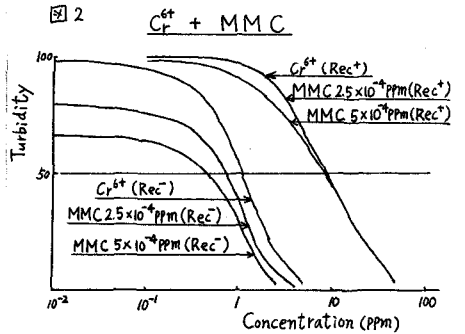


図3

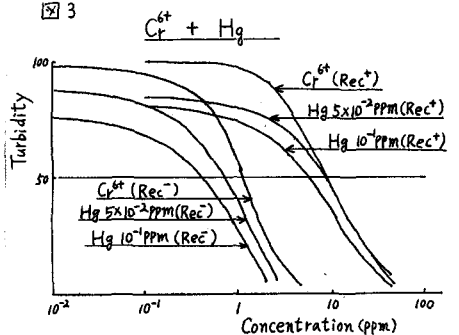


図4

