

シクロデキストリンポリマーを用いたトリフェニルスズ化合物の 線虫に対する毒性の抑制

九州大学工学部 学生会員 ○渡辺健太郎

九州大学大学院 正会員 大石京子

九州大学大学院 学生会員 深江信義

九州大学大学院 大嶋雄治 島崎洋平

1.はじめに

トリフェニルスズ化合物(TPT)は海外で定置網漁具や防汚塗料として船底などに利用されてきたが、これは底生生物への毒性が強いため現在は使用が規制されている。しかし、TPTは疎水性かつ難分解性であり沿岸域の底泥に蓄積している。これによる底生生物への影響が懸念されており、対処の必要がある。

シクロデキストリンポリマー(CDP)はシクロデキストリン(CD)をエピクロロヒドリンで架橋した重合体である。CDのグルコースの結合数によりそれぞれ α 、 β 、 γ -CDPと呼ばれる。CDPは水、有機溶媒ともに不溶性であり、吸脱着が容易である。

本研究ではCDPの特性を利用してTPTの毒性抑制効果を海産自由生活性線虫 *Prochromadorella* sp.1(以下線虫)を生物指標として検討した。

2.実験方法

2.1 線虫と珪藻の培養方法

線虫は唯一の餌となる付着珪藻 *Cylindrotheca closterium* (以下珪藻)と改変 SWM-3 培地が入った培養フラスコ内で25℃、L:D=12:12(hour)の明暗条件で培養した。珪藻は無菌的に7日に1回追加した。これにより線虫を連続的に培養することが可能である。一方、珪藻は改変 SWM-3 培地のみで線虫と同様の条件で培養した。

2.2 珪藻の増殖に与える TPT の影響

線虫を連続的に培養するには、珪藻の増殖が重要である。そこで、珪藻の増殖に与える TPT の影響を検討した。TPTCl 10^{-4} mol/L(DMSO10%)の溶液を改変 SWM-3 培地を用いて 400 倍希釈した。その希釈溶液 0.1mL を 2.1 の珪藻を培養した培地 4.9mL に混合し最終的に TPT 10^{-9} mol/L とした。7日間培養後、アセトン抽出法により珪藻からクロロフィル a 濃度を求めた。

2.3 CDP による TPT の除去効果の検討

TPTCl 10^{-4} mol/L(メタノール濃度 20%)の溶液を作成し、 α 、 β 、 γ -CDP を 1.0%(w/v)添加したものを 130rpm で振とうした。24 時間後、約 1600G で 10 分間 CDP

を遠心分離し、上澄液を TPT の吸収極大波長である 257nm における吸光度を測定し、TPT 濃度を算出することで除去率を求めた。

2.4 線虫の成長に与える TPT 毒性に対する CDP の影響

まず、TPTCl 10^{-4} mol/L(DMSO10%)の溶液に α 、 β 、 γ -CDP をそれぞれ 1.0%(w/v)添加したものを 130rpm で振とうした。24 時間後、約 1600G で 10 分間 CDP を遠心分離し、上澄液を改変 SWM-3 培地を用いて 10000 倍希釈した。次に 2.1 の線虫の培養液と希釈溶液をガラス製 96 穴マイクロプレートにそれぞれ分注した。分注から 7 日後に顕微鏡と専用のカメラを用いてウェル内の線虫を撮影し、線虫の体長を測定した。

3.結果および考察

3.1 珪藻の増殖に与える TPT の影響

7 日間培養後の珪藻のクロロフィル a 濃度を図 1 に示す。陽性対象区(BLANK)に対して TPT 添加試験区では 6%程度の差であった。よって、2.2 における条件では TPT は珪藻に与える影響がないと考えられる。そのため、線虫に対する TPT の毒性の影響の検討が可能である。

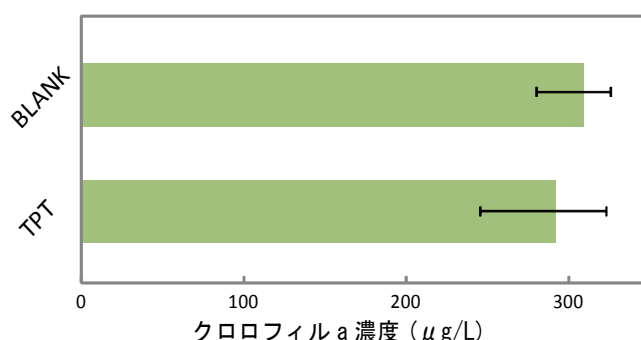


図 1 珪藻の増殖に及ぼす TPT の影響

3.2 CDP による TPT 除去効果の検討

CDP によるメタノール溶液からの TPT の除去率を図 2 に示す。CDP は溶液中の TPT に対して 20~30% の除去効果が得られた。また、 β 、 α 、 γ -CDP の順に高い除去率を示した。 α 、 β -CDP の除去率が γ -CDP と比較して高くなるため TPT の除去には α 、 β -CDP が高い効果があると考えられる。

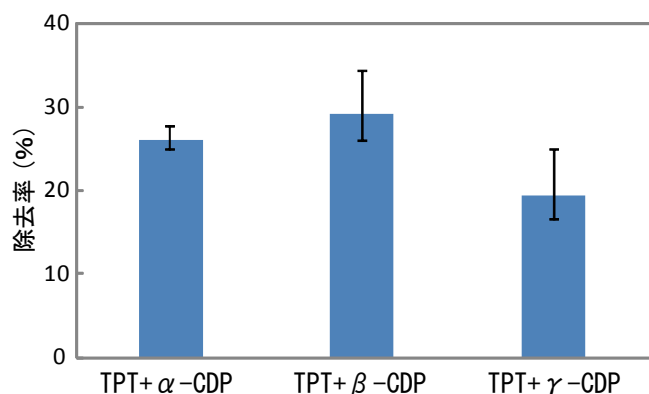


図2 CDPによる溶液からのTPTの除去率

3.3 線虫の成長に与えるCDPとTPT慢性毒性の影響

分注1週間後の線虫の体長ごとの存在割合の分布を図3に示す。BLANKでは分布のピークは200-400 μm に現れた。これは線虫が成長し、産卵・孵化がおこなわれていることを示している。TPTを添加した試験区では、600-800 μm に分布のピークがあり、BLANKと比較して400 μm 以上の線虫が多く分布した。TPT+ α , β , γ -CDPを添加した試験区では200-400 μm に分布のピークが見られ、BLANKと類似した傾向が見られた。

これらの結果よりTPTは線虫の産卵・孵化を抑える影響があるものと考えられる。また、TPT+ α , β , γ -CDP添加試験区ではBLANKと同様の傾向が見られたため α , β , γ -CDPはTPTが線虫に与える毒性を抑制するものと考えられる。

4. 結論

本研究よりCDP1.0%(w/v)の条件でTPTを20~30%除去する効果があることが確認され、その除去作用によりCDPは線虫の産卵・孵化にTPTが与える影響を抑制する効果があることが明らかになった。また、CDPはCDとポリマーで吸着作用が異なるが、図3より大きな差異が生じなかったため、TPTに対してCDPはポリマーによる吸着が主に働いていると考えられる。

5. 謝辞

本研究を進めるにあたり青森県産業技術センター工業総合研究所からCDPを提供していただいた。ここに謝意を表す。

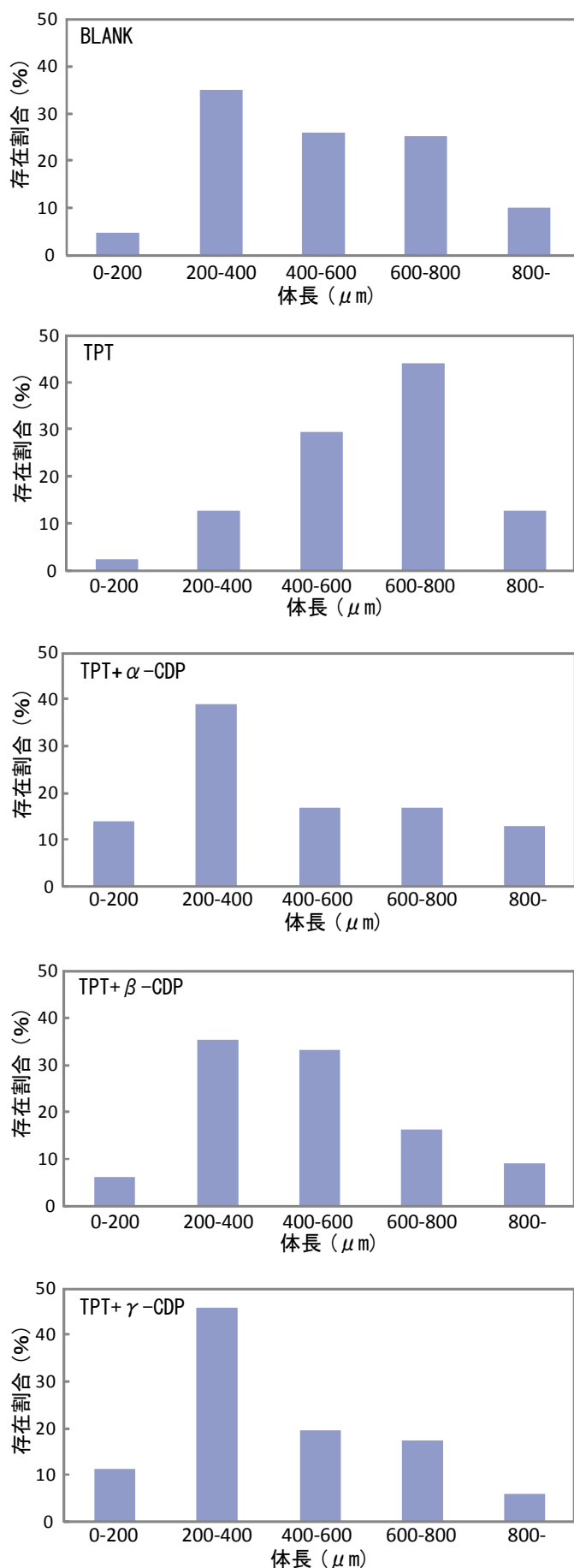


図3 線虫の体長に及ぼすTPTとCDPの影響