

カビ臭物質の変異原性について

東北学院大学工学部 正員 石橋良信

1. はじめに

カビ臭物質 geosmin, 2-methylisoborneol(2-MIB)に毒性があるか否かの問題は、水道水を飲料とする人々にとって、最も関心のある事柄である。この疑問に対して、水道関係者は自然界にある濃度は非常に薄いこと、カビ臭発生時期が1年のある短い時間であること、また、水道は100年ほどカビ臭で苦しめられてきているのに、未だ毒性が問題になった例がないなどと返答してきたし、0.1ppb程度の濃度では急性毒性はないと考えている。¹⁾ 筆者は以前試験魚アカヒレを用いた実験より、少なくとも急性毒性は認められないことや低栄養細菌に対しては抗菌作用がありそうなことを指摘した。本稿ではこの毒性試験の一環としてカビ臭物質の変異原性の有無について報告する。

2. 変異原性試験と umu-test

カビ臭の着いた水を長期間飲用して安全であろうか。この観点で発ガン性試験の一種である変異原性試験を試みた。変異原性試験は、動物実験によるガン原性と、微生物の突然変異の発現により判定する変異原性との間には高い相関があるためガン原性試験に先だつスクリーニングとしてなされる。今回はumu-testを用いたが、umu-testは Ames testと同様、

発ガン性の疑いのある物質をサルモネラ菌の一種に加え、突然変異を起こさせる強さを測る方法である。細胞のDNAはある種の環境や化学物質によって損傷されると「SOS反応」とよばれる突然変異の誘発、プロファージの誘発、DNA修復能向上、細胞分裂の阻害などの応答が生じる。これらの反応は、主として

lexAと recAの2つの遺伝子で発現が調節されている。この両遺伝子によって調節されているSOS遺伝子に、突然変異の生成に関する umu遺伝子がある。²⁾ 品川らは、突然変異原の検出にこの umu遺伝子の発現をみる方法を確立した。変異原物質によってSOS反応が誘発されると、umu遺伝子のプロモーターの調節下にある umuC'-lacZ融合遺伝子が発現する。

その産物である UmuC'-lacZ雑種蛋白はβ-galactosidase 活性をもつので、これをSOS反応の強さ、すなわち、変異原性の強さの指標とすることが可能である。³⁾

| | AF-2 | | | 2AA | | | | geosmin | | | | 2-MIB | | | | |
|--------------|------|------|----|-----|-----|-----|-----|---------|-----|-----|-----|-------|-----|-----|-----|-----|
| | - | - | + | - | - | + | + | - | - | + | + | - | - | + | + | |
| 0.9 μg/ml | 30 | 30 | | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 0.3 μg/ml | 10 | 10 | | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 0.1 | 3.3 | 3.3 | | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 0.037 | 1.1 | 1.1 | | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 0.011 | 0.37 | 0.37 | | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 0.0037 | 0.12 | 0.12 | | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 0.0012 | 0.04 | 0.04 | | | | | | | | | | | | | | |
| | 溶媒 | 溶媒 | 溶媒 | 溶媒 | 溶媒 | 溶媒 | 溶媒 | 溶媒 | 溶媒 | 溶媒 | 溶媒 | 溶媒 | 溶媒 | 溶媒 | 溶媒 | 溶媒 |

-+は代謝活性化物質添加の有無

図-1 umu-testの条件

3. カビ臭物質の変異原性

実験は市販のキットを使用した。

umu-testに用いた菌株は *S. typhimurium* TA1535/pSK1002である。

試料はジメチルスルフォキシド (DMSO) に溶解させたgeosmin と 2-MIBを 10ppt ~ 1ppm の濃度に設定し図-1に示すようにマイクロタイタープレートに配置した。変異原物質の中には体内で代謝されて変異原性を示すものがあり、これを調べる試料としてラットの肝臓から抽出調整した代謝活性化物質S-9を添加することがある。図中の+は、S-9の添加の状況を示す。また、陽性対照物質として Furfuryl furamide(AF-2)と 2-Aminoanthracene(2AA)を使用した。実験は凍結乾燥してある菌株をインキュベーターで37℃、3時間培養、活性をもたせた後、それぞれの検体のプレートwellに分注し、さらに2時間培養後、発色基質で発色させた。

| | AF-2 | | 2AA | | geosmin | | | | 2-MIB | | | |
|--|------|-----|------|----|---------|-----|------|------|-------|-----|------|------|
| | - | - | - | + | - | - | + | + | - | - | + | + |
| | 0.1 | 0.1 | 1.0 | 以上 | 0.1 | 0.1 | 0.15 | 0.15 | 0.1 | 0.1 | 0.15 | 0.15 |
| | 0.3 | 0.1 | 1.0 | 以上 | 0.1 | 0.1 | 0.15 | 0.15 | 0.1 | 0.1 | 0.15 | 0.15 |
| | 0.75 | 0.1 | 1.0 | | 0.1 | 0.1 | 0.15 | 0.15 | 0.1 | 0.1 | 0.15 | 0.15 |
| | 0.5 | 0.1 | 0.4 | | 0.1 | 0.1 | 0.15 | 0.15 | 0.1 | 0.1 | 0.15 | 0.15 |
| | 0.3 | 0.1 | 0.3 | | 0.1 | 0.1 | 0.15 | 0.15 | 0.1 | 0.1 | 0.15 | 0.15 |
| | 0.2 | 0.1 | 0.15 | | 0.1 | 0.1 | 0.15 | 0.15 | 0.1 | 0.1 | 0.15 | 0.15 |
| | 0.1 | 0.1 | 0.15 | | 0.1 | 0.1 | 0.15 | 0.15 | 0.1 | 0.1 | 0.15 | 0.15 |
| | 0.1 | 0.1 | 0.15 | | 0.1 | 0.1 | 0.15 | 0.15 | 0.1 | 0.1 | 0.15 | 0.15 |

- + は代謝活性化物質添加の有無

図-2 umu-testの結果

発色の様子をカラーインデックスで判定した実験の結果の一例を図-2に示す。

陽性対照物質では所定の青い発色がみられ、適切な反応が行われたにもかかわらず、カビ臭物質ではblankとしての溶媒 (10%DMSO) と対比しても強い発色が認められなかった。したがって、umu-testにおいては、また、通常の濃度範囲内ではカビ臭物質には変異原性はないと判断された。

4. おわりに

今回はumu-testでカビ臭物質に変異原性がないことを示したが、変異原性試験にはその他動物実験や大腸菌による方法もあり、今後、総合的にカビ臭物質の水への安全性の確認をより確実なものにしていく必要がある。最後に、実験は本研究室卒研生に負うところ大であった、感謝する。

引用文献

- 1) 八木正一：淡水生物—特に藍藻類に起因する臭気、衛生化学、pp.16-22、1983.
- 2) 大塚アッセイ研究所：変異原性試験キット説明書.
- 3) 品川日出夫他：umu テストによる環境変異原の検出法、トキシコロジーフォーラム、Vol.8、pp.580-586、1985.