

II - 100

残雪表層における変異原性物質の有無について

東北学院大学大学院 学生員 ○和泉紀幸

東北学院大学工学部 正 員 石橋良信

東北大学医学部

小松正子

1. はじめに

Ames法に代表される変異原性試験は、大気や水系における種々の物質の毒性評価手法として多用されており、最近多くの知見が蓄積されつつある。しかしながら、“雪”に関しては調査報告が見あたらず、変異原性の有無も確認されていない。今回、雪、とくに残雪表層の変異原性試験を行い、若干の知見を得たので報告する。

2. 実験手法

試料は初夏に車の影響のないと思われる山形県月山から採取し、 -80°C のディープフリーザーに凍結保存しながら試験毎に一部を解凍して実験に供した。試験方法はAmes法に準拠して行った。¹⁾ Ames法は サルモネラ菌(*Salmonella typhimurium*)の変異菌株を用いた、発がんの有無のスクリーニング手法である。試験にかける前処理として、試料を濃縮、再抽出する必要があるが、本実験では、玉川の採用している超音波抽出法を用いた。具体的には、融解後の試水の適量をフィルター（ガラス紙 $0.45\mu\text{m}$ ）に通水し、その残渣を一昼夜室内で乾燥した。残渣は トルエン:エタノール(3:1, v/v)溶液で20分間超音波抽出し、ろ過した。ろ液はエバポレータで減圧濃縮後、ジメチルスルホキシド(DMSO) 3 ml に溶解し、 -20°C で保存した。変異原性試験は保存試料を段階的に希釈し、その 100 μl を実験に供した。

供試菌株 TA100は DNAの塩基対が交換されて復帰する変異（塩基対交換型）、TA98は塩基対が余計に加わったり、脱落して復帰する変異（フレームシフト型）をうながす。S9_{mix}はラットの肝臓から抽出される代謝活性酵素であり、+S9_{mix}は試料へのこの酵素の添加を表示し、結果は間接変異原性の有無を判定する。一方、-S9_{mix}は無添加であり、直接変異原性の如何を示す。変異原性の有無はコントロールの2倍以上復帰コロニーが計測された際に変異原性ありと判定される。また、変異原性の強さはAF-2換算値、ベンゾピレン(BaP)換算値でも表せる。¹⁾

3. 実験結果

変異原性試験を行った結果の代表例を図-1～4に掲げる。図はそれぞれ供試残渣量に対する自然復帰変異コロニー数を示している。

図-1は、TA100、-S9_{mix}の条件での結果を示す。コントロールの自然復帰変異コロニー数 157個に対して試料SS14.3mg/100 μl 以上で2倍以上の316個を越える。したがって、変異原性は陽性であり、かつ塩基対交換型、直接変異原性を示す。また、SS 113.7 mg/100 μl の際のAF-2換算

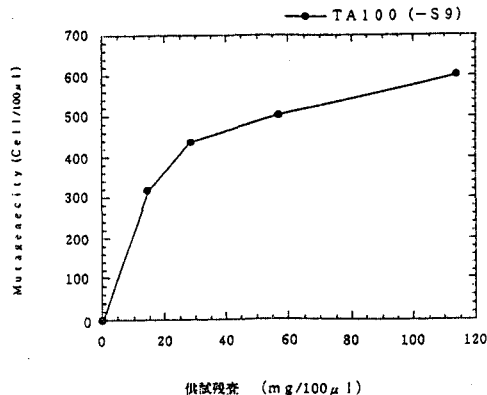


図-1 残雪表層の変異原性試験結果

では 103.0 ng の AF-2 が作用した
 ときの変異原の強さに相当する。

図-2 は、TA100、+S9_{mix} の条
 件下である。コントロールの自然復帰変異
 コロニ-数 249個に対し、SS 113.7
 mg/100ul 以上で 598個を越え、陽性、
 塩基対交換型、間接変異原性を示す。
 BaP換算値は、SS 113.7 mg/100ulの
 とき 2.89 μ g のベンゾピレンが作用
 したときの強さに相当する。

TA98、-S9_{mix}の実験結果を図-
 3 に示す。コントロールの自然復帰変異
 コロニ-数150個に対して試料SS33.3
 mg/100ul 以上で2倍以上の 306個を
 越える。従って、変異原性は陽性で
 あり、かつフレームシフト型、直接変異原
 性を示す。また、SS 136.7 mg/100ul
 のとき3.15ng の AF-2 が作用したと
 きの強さに相当する。

図-4 は、TA98、+S9_{mix} の条件
 下での実験である。コントロールの自然
 復帰変異コロニ-数150個に対し、SS
 33.3mg/100ul 以上で 308個を越え、
 フレームシフト型、間接変異原性を示す。
 BaP 換算値は、SS 136.7mg/100ulの
 とき 13.8 μ g のベンゾピレンが作用
 したときの強さに相当する。

なお、新雪（学内より採取）の
 変異原性は認められなかった。

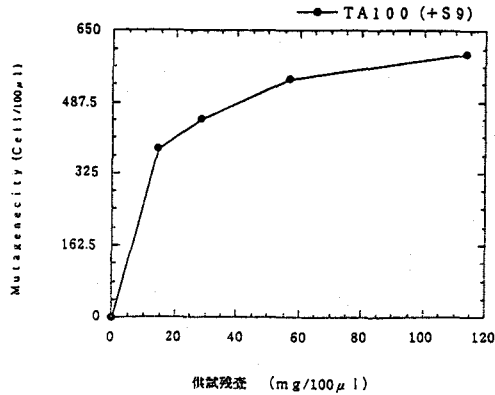


図-2 残雪表層の変異原性試験結果

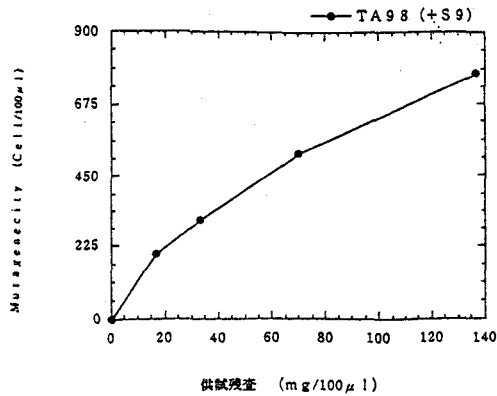


図-4 残雪表層の変異原性試験結果

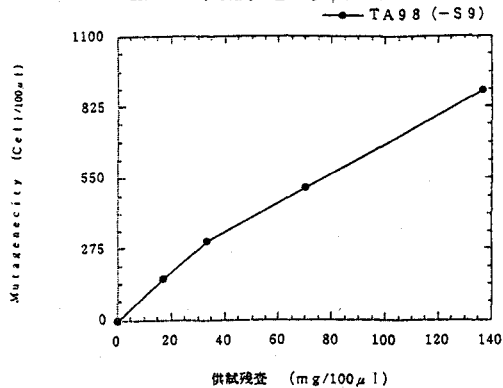


図-3 残雪表層の変異原性試験結果

4. おわりに

残雪表層を試料にAmes試験を試み、菌株の違い、S9_{mix} の組合せから塩基対交換型、フレームシフト型、かつ直接、間接変異原性の存在が認められた。今後、変異原性を発現される物質の特定、また同試料を対象にがん抑制遺伝子 P53等を用いた毒性試験での再現性を図る予定である。本実験の遂行にあたり、仙台市衛生研究所玉川勝美博士、東北大学薬学部出川雅邦博士から教示を受けた。また、実験には卒研生字津井善幸君、山田知広君の協力を得た、記して感謝する。

参考文献 1)土木学会衛生工学委員会編、環境微生物工学研究法、pp. 359-362, 1993.