

た結果、本酵素はエンド型のグルカナーゼであると結論した。また、ファミリー4の糖質結合モジュールを単独で発現させ、実際にボールミルセルロースに結合する機能を持つことを確認した。

Ⅲ. キシラナーゼおよびセルラーゼ遺伝子の嫌気性細菌での発現

ルーメン細菌 *Butyrivibrio fibrisolvens* 49 や *R. albus* F-40 からキシラナーゼ (*xynA*) やセルラーゼ (*egl*) 遺伝子が単離された結果、これらを原株や他の嫌気性菌で発現させ、ルーメン内の飼料分解能を改良する発想が生まれ、嫌気性菌のホスト・ベクター系が開発されてきている。これを利用して、*B. fibrisolvens* OB156C へ *xynA* 遺伝子

を導入し、XynA のシグナル配列がタンパク質の細胞外への分泌に機能することを確認した。このシグナル配列を *R. albus* F-40 由来セルラーゼ遺伝子 (*egl*) の上流に連結して発現させることにより、*B. fibrisolvens* で発現するセルラーゼ活性の 93%以上を分泌させることに成功した。

また、本学土壌から単離した嫌気性細菌 *Clostridium paraputrificum* M-21 株に *R. albus* F-40 のセルラーゼ遺伝子 (*egl*) 導入することにより *C. paraputrificum* ヒドロゲナーゼ遺伝子のプロモーター制御下で *R. albus* の *egl* 遺伝子を発現させることに成功した。

生物機能応用科学専攻

氏名	岩崎 誠二
学位記番号	生博 甲第 158 号
学位記授与の日付	平成 16 年 9 月 15 日
学位論文題目	三重県の水環境におけるエストロゲン様物質の挙動に関する研究
論文審査委員	主査 教授・栗冠 和郎 教授・古市 幸生 助教授・木村 哲哉 京都大学大学院地球環境学堂 教授・松井 三郎

要 旨

目的・方法

水環境の化学物質汚染のリスク管理を目的として、ヒトエストロゲン（女性ホルモン）受容体遺伝子組換え体酵母（以下、hER）によるバイオアッセイ（以下、酵母法）を利用したエストロゲン様物質の測定及び挙動解析を行った。hER には、エストロゲンに対する生体反応機構が組み込まれていて、その反応量に応じて酵素を生産する仕組みになっている。それゆえ、酵素活性を測定することによって、エストロゲン様物質の活性強度を定量することができる。また、測定試料の総括的な濃度の測定ができることから、環境試料のような混合系のエストロゲン様物質の測定手段として有用である。さらに、酵母法と HPLC と組み合わせた分析法では、定性分析も可能である。なお、本研究ではエストロゲン様物質の活性量は、17 β -エストラジオール（E2）等量として表した。

結 果

三重県内 18 河川の調査結果では、最大値は 14.7ng/L であり、6 割近い検体が 1ng/L を上回っていた。また、水試料をろ過液とろ過残さに分離してエストロゲン様物質を分析したところ、平均で 83%がろ過液に含まれていた。伊勢湾湾奥の四日市港地先海域で 6 地点 12 回調査した結果、すべての検体からエストロゲン様物質が検出された。最大値は 2.3ng/L であり、5 割の検体が 1ng/L を下回っていた。平均でエストロゲン様物質の 72%がろ過液に含まれていた。伊勢湾の湾奥から湾口にかけて 4 地点の上下層を測定したところ、上層で 0.1~2.3 ng/L、下層で N.D.~0.9ng/L であり、湾奥から湾口に向かうに従って値が減少する傾向があった。伊勢湾 8 地点における底質のエストロゲン様物質は、大部分が E2 及びエストロン（E1）であり、それらの合計値は、伊勢湾の最奥部では 6.5ng/g、湾口部では 1.1ng/g であった。前川から英虞湾湾口まで 8 地点の水質のエストロゲ

ン様物質は、前川河口で 16.6ng/L であったが、湾口に向かうに従い徐々に濃度が減少し、湾口では 1.0ng/L まで低減した。底質試料のエストロゲン様物質は、前川河口で 24.3ng/g、湾内では数分の 1 であり、湾口 0.2 ng/g まで低減した。底質のエストロゲン様物質は、英虞湾、伊勢湾ともにエストロゲン様物質と TOC との間に正の相関関係が認められた。志摩半島東岸の志島地先海域では、荒天時には上層 1.0ng/L、下層 1.6ng/L で、平時では上下層とも 0.3ng/L であった。底質エストロゲン様物質は、1 回目 13.3ng/L、2 回目 11.0ng/L であり、伊勢湾湾奥の底質の 2 倍程度であった。地下水では、7 地点のうち 6 地点で低い濃度でエストロゲン様物質が検出された。

考 察

三重県の水環境におけるエストロゲン様物質を酵母法で測定したところ、ほとんどの水域からエストロゲン様物質が見いだされた。HPLC-バイオアッセイ法の結果から、これらのエストロゲン様物質は、し尿に由来する E1 及び E2 が主要な成分であると考えられる。魚類にメス化等の影響が出るおそれのある濃度は E2 で 10ng/L と言われているが、河川の一部水域ではこの数値を上回った。伊勢湾及び英虞湾の水質は、発生源に近い湾奥では濃度が高く、湾口では低い傾向があった。この原因として、外洋水による希釈と、その他要因が考えられる。そこでこれらの要因を、塩分濃度を指標にして計算した

ところ、E2 に関しては 5 割以上が希釈以外の要因であった。水質エストロゲン様物質の削減対策としてはまず下水道が挙げられる。また、し尿処理施設は、きわめて効率的にエストロゲン様物質を分解するので、我が国特有のくみ取り式トイレはエストロゲン様物質の対策に極めてすぐれた方法である。一般に化学物質の底質への吸着量は、TOC の含有量に比例することが知られている。底質の TOC とエストロゲン様物質に相関が確認されたことから、底質の TOC を削減することによってエストロゲン様物質を削減できると考えられる。その観点からも、下水道による生活排水の TOC 除去は底質のエストロゲン様物質対策にも有効である。底質の TOC は陸水由来の部分もあるが、植物プランクトンによる内部生産の寄与が大きい。そこで、海域の窒素・リンを削減することによって底質の TOC を減少させ、し尿は底質のエストロゲン様物質を削減することができると考えられる。海域の窒素・リンについては、伊勢湾については現在第 5 次伊勢湾総量規制で削減対策を実施中である。地下水質のエストロゲン様物質も HPLC-バイオアッセイ法の結果からし尿由来と考えられる。地下水のエストロゲン様物質から大腸菌群と高い相関関係が確認されている。地下水のし尿による汚染状況把握は、非常水源の確保等、危機管理上重要である。エストロゲン様物質は地下水中では比較的安定と考えられ、地下水のし尿の指標としては有用と思われる。