

都市雨天時排水の生態系影響要因解明へ向けた底生生物遺伝子発現・代謝物解析の適用

東京大学 中島典之

【研究背景、目的、意義】

雨天時に水域に排出される市街地道路塵埃は、これまでの研究から受水域底生生態系への潜在的ストレスが強く懸念されているが、その毒性要因は未だ解明されておらず、効果的・戦略的な発生源対策のためには従来とは異なるアプローチでの探索が求められる。そこで本研究では、毒性試験に用いられる底生甲殻類の遺伝子発現応答および代謝物解析に着目し、道路塵埃の生態系影響要因解明を目指した。特に当該試験生物の遺伝子情報は極めて限られており、その配列解読結果自体に学術的新規性があり、道路塵埃に限定せず広く土壌・底質汚染における生態毒性要因解析手法の確立へ向けた必須の基礎情報となる。

【手法及び結果】

試験生物種として底生甲殻類 *Grandidierella japonica* (ニホンドロソコエビ) および *Heterocypris incongruens* (カイミジンコ) を用いた。遺伝子発現については先行研究例のない *H. incongruens* (ISO 底質毒性試験種) を用いた。代謝物については分析感度の制約から個体サイズの大きい *G. japonica* を用いた。既知化学物質に対する網羅的ストレス応答データ (発現遺伝子あるいは代謝物) を取得するとともに、実際の道路塵埃に曝露した系と比較することで毒性要因を考察した。化学物質としては道路塵埃中に典型的に存在する重金属・有機汚染物質類を用いた。道路塵埃は、道路管理者の協力のもと道路清掃車の塵芥から微粒子画分のみを分取した。

遺伝子発現については、*H. incongruens* のゲノム情報が得られないことから、非汚染条件および亜鉛曝露条件下で飼育した個体から RNA を抽出し、発現遺伝子のライブラリを構築した。既存の遺伝子配列データベースと照合し、全体の 26.5% (75,570 リード) についてアノテーションされた。それらの中からストレス応答の一種として 4 種の抗酸化関連遺伝子に着目し、道路塵埃に曝露した *H. incongruens* で有意な発現の変化が認められるか検証した。結果として有意な変化は認められなかった。

代謝物応答については、*G. japonica* を用いて複数の既知物質曝露系 (半数致死レベル) を準備し、回収された生体内物質 (代謝物) を精密質量分析により解析し、その発現パターンから、当該物質の曝露有無を判別するモデル (PLS-DA) を構築した。結果として Cr, Ni, Cu, Zn, Cd, フルオランテン、ニコチンの全てにおいて曝露なしと判別された。

本研究の成果として、化学分析データのみでは分からない曝露状態に関する判別ツールが構築され、今後の要因推定の基礎として活用することが期待される。現時点では既知物質適用例が限られており結論付けることは難しいが、道路塵埃中の主要でない成分が底生甲殻類へ毒性影響を与えている可能性が示唆された。