

メダカビテロゲニン・バイオアッセイの基礎検討

西 和人¹⁾、近江 みゆき²⁾、羽田野 泰彦¹⁾、水上 春樹¹⁾、山下 倫明³⁾、榊原 隆三⁴⁾、民谷栄一²⁾、森田昌敏⁵⁾

1)株式会社エンバイオテック・ラボラトリーズ 2)北陸先端科学技術大学院大学

3)中央水産研究所 4)九州女子大学 5)国立環境研究所

【目的】

内分泌攪乱物質の人体および野生動物への影響が懸念されているなか、これまでにさまざまなスクリーニング試験が開発されてきた。その中で、魚類を用いたビテロゲニン誘導試験は経済協力開発機構(OECD)においても検討項目となるなど、非常に注目されている生物試験の1つである。これまでに我々は、モノクローナル抗体を利用したメダカビテロゲニンELISAアッセイの開発を行ってきた。今回、メダカを用いたビテロゲニンアッセイを行うにあたり、17β-エストラジオール(E2)暴露を行った際の血漿および肝臓中のビテロゲニン濃度の比較、および、E2のビテロゲニン誘導に及ぼす飼育条件(日照時間および温度)の検討を行い、若干の知見を得たので報告する。

【方法】

実験はすべて1Lビーカーを用いた止水系で、E2の薬浴より行った。オスメダカを30pptおよび1,000pptのE2に暴露し、肝臓および血漿中のビテロゲニン濃度の経時変化を7日間検討するとともに、7日日からは清浄水に戻しさらに14日間ビテロゲニン濃度を追跡した。ビテロゲニン誘導に及ぼす飼育条件の検討は、30pptのE2暴露により行った。日照条件は25℃における短日(14dark-10light)および長日(10dark-14light)で比較し、温度は長日条件における19℃および25℃で比較した。

【結果と考察】

E2暴露における、肝臓および血漿中のビテロゲニン濃度の経時変化においては、両サンプルとも同傾向であり、4~5日日ではほぼビテロゲニン値はピークとなった。また、両サンプルのビテロゲニン値は良好な相関を示した。飼育条件におけるビテロゲニン誘導への影響については、日照条件の変化によるビテロゲニン値の差は見られなかったが、19℃ではビテロゲニン値が25℃に比べ若干低い値を示した。これらの結果から、本バイオアッセイは、肝臓または血漿中のどちらもビテロゲニン測定サンプルとして利用可能であり、実験室内の飼育条件で1週間程度の暴露期間により行える可能性が示唆された。

Study of Medaka (*Oryzias latipes*) Vitellogenin Bioassay

Kazuto Nishi¹⁾, Miyuki Chikae²⁾, Yasuhiko Hatano¹⁾, Haruki Mizukami¹⁾, Michiaki Yamashita³⁾, Ryuzo sakakibara⁴⁾, Eiichi Tamiya²⁾, Masatoshi Morita⁵⁾

¹⁾ EnBioTec Laboratories, CO., Ltd. ²⁾ Japan Advanced Institute of Science and Technology ³⁾ National Research Institute of Fisheries Science, ⁴⁾ Kyushu Women's University, ⁵⁾ National Institute for Environmental Studies

Vitellogenin bioassay is considered as useful assay for screening of endocrine disruptors. We have developed medaka vitellogenin ELISA system using monoclonal antibodies for quantification of vitellogenin. In this report, we compared vitellogenin concentration in plasma with it in liver for 3 weeks after exposure male medaka to β -estradiol and studied the effect of vitellogenin induction by different β -estradiol exposure conditions (temperature and light). These results suggested as follows. 1) Both plasma and liver could be used as samples for medaka vitellogenin quantification, 2) One week exposure would be sufficient to prescreening of endocrine disruptors, 3) Ordinal laboratory conditions (room temperature : 25°C, 10-14h light) could be applicable for the medaka vitellogenin bioassay.